

THÈSE PRÉSENTÉE POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

ÉCOLE DOCTORALE

Sciences de la Vie et de la Santé

SPÉCIALITÉ

Neurosciences

Par Quentin DURIEZ

**TABAGISME ET ATROPHIE CÉRÉBRALE
CHEZ LE SUJET ÂGÉ**

Sous la direction de : Bernard MAZOYER.

Groupe d'Imagerie Neurofonctionnelle
GIN UMR 5296 - CEA - CNRS - Université de Bordeaux.

Soutenue le 17 Décembre 2014.

Membres du jury :

M. CHABRIAT Hugues
M. KRAINIK Alexandre
M. MAZOYER Bernard
M. TZOURIO Christophe

PUPH Université Paris VII
PUPH Université de Grenoble
PUPH Université de Bordeaux
PUPH Université de Bordeaux

Rapporteur
Rapporteur
Directeur de thèse
Examineur

RESUME :

L'augmentation de l'espérance de vie durant le XXème siècle, accompagnée d'une augmentation du nombre de personnes âgées, a placé le vieillissement cérébral et ses pathologies associées dans les défis majeurs de ce début de XXIème siècle. Ce travail de thèse consiste à étudier et quantifier l'impact de la consommation de cigarette sur le vieillissement morphologique cérébral au sein d'une grande cohorte de volontaires sains, celle de l'étude 3 Cités. Nous nous sommes attachés à évaluer et comparer son impact, par rapport à d'autres facteurs accélérant le vieillissement cérébral, dans des études transversales et longitudinales. Il en ressort que le tabac a un effet, principalement global, plus important que les facteurs de risque cardiovasculaires inclus dans cette étude, et de même ampleur que celui de l'âge. Nous montrons que cet effet est arrêté avec la consommation, montrant qu'une prévention chez les personnes âgées pourrait s'avérer d'un bénéfice majeur pour la société. De plus, les analyses ont été réalisées en séparant les femmes et les hommes dans nos analyses. Cela nous a permis de mettre en évidence une influence différentielle de la consommation de tabac sur le vieillissement cérébral dans les deux sexes.

Néanmoins, les résultats présentés ont pour la plupart jamais été montrés et cela demande la réplication de l'étude dans une autre population

MOTS CLEFS: tabac, vieillissement, sexe, atrophie cérébrale, substance grise, substance blanche, hippocampe, ganglions de la base, IRM.

TITLE : Tobacco smoking and brain atrophy in the elderly subject.**SUMMARY :**

The increase in life expectancy seen during the XXth century, followed by an increase in the proportion of elderly, placed the study of brain aging and of its accompanying diseases in the spotlight. This thesis had for goal the study and quantification of the impact of tobacco consumption on brain morphological aging in a large cohort of elderly subjects from the Three Cities Study. We focused to evaluate and compare its impact, in comparison with other factors known to influence brain aging, in longitudinal and cross-sectional studies. We show that tobacco smoking has an effect, mainly global, more important than the others cardiovascular risk factors included in this study and as important as the effect of age. Also, we have found that this effect stops with the consumption, showing that prevention among the elderly population might be of major interest for society. Moreover, analysis have been conducted in men and women separately, allowing us to find differential effects of tobacco consumption on the brain morphological aging in the two sexes.

KEYWORDS : tobacco, aging, sex, brain atrophy, gray matter ,white matter, hippocampus, basal ganglia, MRI.

LABORATOIRE : Groupe d'Imagerie Neurofonctionnelle (GIN) UMR 5296 - Université Bordeaux Segalen - CNRS - CEA, 146 rue Léo Saignat - Case 71, 33076 Bordeaux cedex

Remerciements

Je tiens à remercier vivement mon directeur de thèse, Bernard Mazoyer, pour m'avoir guidé avec une grande patience tout au long de cette formation et pour m'avoir accueilli dans cette famille scientifique qu'est le Groupe d'Imagerie Neurofonctionnelle.

Je souhaite aussi remercier particulièrement Fabrice Crivello, pour avoir pris le temps de me former aux méthodes d'imagerie et pour avoir été toujours présent lorsque le besoin s'en faisait sentir, et même lorsque que ce n'était pas le cas.

Je voudrais remercier mes rapporteurs : les Professeurs Hugues Chabriat et Alexandre Krainik pour avoir accepté la charge d'évaluer ce travail, ainsi que le Professeur Christophe Tzourio pour sa participation à mon jury de thèse.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à Pierre-Yves Hervé, sans qui bien des scripts n'auraient jamais vu le jour et bien des livres n'auraient pas été lus.

Nathalie Tzourio-Mazoyer, Laure Zago, Isabelle Hesling, Gaëlle Leroux, Kristell Lozac'hmeur, Anita Foro, Marc Joliot, Emmanuel Mellet, Gaël Jobard, Laurent Petit, Nicolas Vinuesa ainsi que Guy Perchey qui font le quotidien dynamique et motivant de l'équipe, toujours disponibles et auxquels je souhaite adresser collectivement des remerciements pour avoir su faire preuve d'une patience sans faille et d'un accompagnement, scientifique et/ou réconfortant, constant durant ce long parcours qu'est la thèse.

Je souhaite aussi remercier les Doctorantes et les Post-Doctorantes de l'équipe, Marianne Allanic, Solveig Badillo, Janice Hau et particulièrement Sophie Maingault qui s'est montrée d'une grande aide dans bien des domaines. Toutes ont aussi su me changer les idées lorsque cela était nécessaire. Tout cela sans oublier Damien Marie qui aura été celui qui m'a initié à l'univers du Groupe d'Imagerie Neurofonctionnelle.

À ma famille

PLAN DU DOCUMENT

LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	5
INTRODUCTION GÉNÉRALE	6
CHAPITRE 1 : ÉTUDE DU VIEILLISSEMENT CÉRÉBRAL : PERSPECTIVE HISTORIQUE, NEUROBIOLOGIQUE ET MÉTHODOLOGIQUE	10
I. HISTORIQUE DE LA RECHERCHE SUR LE VIEILLISSEMENT CÉRÉBRAL	11
II. BASES MOLÉCULAIRES ET CELLULAIRES DU VIEILLISSEMENT CÉRÉBRAL.....	20
1. RAPPEL SUR L'ARCHITECTURE MICROSCOPIQUE DU CERVEAU ADULTE.....	20
2. PHÉNOMÈNES MOLÉCULAIRES ET CELLULAIRES CAUSES DU VIEILLISSEMENT.....	32
III. VIEILLISSEMENT MORPHOLOGIQUE MACROSCOPIQUE	40
1. RAPPELS SUR L'ARCHITECTURE MACROSCOPIQUE DU CERVEAU HUMAIN.....	40
2. ÉVOLUTION DES VOLUMES TISSULAIRES CÉRÉBRAUX AU COURS DE LA VIE	44
3. RÉGIONS CIBLES DU VIEILLISSEMENT CÉRÉBRAL.....	50
IV. MESURE PAR IRM DE PHÉNOTYPES CÉRÉBRAUX GLOBAUX ET LOCAUX.....	57
1. PRINCIPE PHYSIQUE	57
2. SÉQUENCES ET CONTRASTES EN IRM.....	59
3. MORPHOMÉTRIE PAR IRM	62
4. VOLUMÉTRIE RÉGIONALE : ATLAS AAL.....	67
5. HYPERSIGNAUX DE LA SUBSTANCE BLANCHE (HSB).....	70
CHAPITRE 2 : FACTEURS DE RISQUE DU VIEILLISSEMENT CÉRÉBRAL : ÉTUDES PAR IRM DE COHORTES DE SUJETS ÂGÉS.....	74
I. ETUDES DE COHORTES DE SUJETS ÂGÉS PAR IRM	75
II. EFFET DE LA CONSOMMATION DE TABAC SUR LE VIEILLISSEMENT NEUROANATOMIQUE	79
III. EFFETS DE CERTAINS FACTEURS DE RISQUE SUR LE VIEILLISSEMENT NEUROANATOMIQUE.....	89
1. LE SEXE	89
2. L'HYPERTENSION	94
3. LE TRAITEMENT HORMONAL SUBSTITUTIF.....	96
4. L'APOLIPOPROTÉINE E	98
5. L'ALCOOL.....	100
6. DIABÈTE	102
7. CHOLESTÉROLÉMIE	104
8. L'INDICE DE MASSE CORPORELLE	106

9. L'ÉDUCATION	108
IV. OBJECTIFS DE LA THÈSE.....	113
 <u>CHAPITRE 3 : ÉTUDE QUANTITATIVE DES EFFETS DU TABAGISME SUR LE</u>	
<u>VIEILLISSEMENT CÉRÉBRAL MACROSCOPIQUE DANS LA SOUS- COHORTE « 3 CITÉS-DIJON</u>	
<u>IRM ».....</u>	<u>114</u>
 I. DESCRIPTION DE L'ÉTUDE « 3 CITÉS ».....	115
1. OBJECTIFS ET ÉCHANTILLONS	115
2. LA SOUS-COHORTE 3C-DIJON ÉTUDIÉE	117
3. L'IRM DANS LA SOUS-COHORTE 3C-DIJON	120
4. ANALYSES STATISTIQUES	123
II. ETUDE TRANSVERSALE	126
1. RÉSULTATS	126
2. DISCUSSION.....	132
3. CONCLUSION	139
III. ETUDE LONGITUDINALE.....	140
1. RÉSULTATS	140
2. DISCUSSION.....	146
3. CONCLUSION	150
IV. ÉTUDE PAR VBM	152
1. ANALYSE TRANSVERSALE.....	152
2. ANALYSE LONGITUDINALE	159
3. DISCUSSION.....	163
4. CONCLUSION	168
V. CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	171
 <u>RÉFÉRENCES.....</u>	<u>172</u>
 <u>ANNEXES.....</u>	<u>196</u>

Liste des abréviations

CE : Cerveau Entier

SG : Substance Grise

SB : Substance Blanche

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

HSB : Hyperintensités de la Substance Blanche

HIP : HIPpocampe

CAU : noyau CAUdé

PAL : PALLidum

PUT : PUTamen

THA : THAlamus

IMC : Indice de Masse Corporelle

PAS/PAD : Pressions Artérielles Systolique et Diastolique

MMSE : Mini Mental State Examination

CES-D : Center for Epidemiological Studies - Depression scale

ApoE4 : variant Epsilon 4 du gène de l'Apolipoprotéine

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

VBM : *Voxel Based Morphometry*

TBM : *Tensor Based Morphometry*

SPM : *Surface-Based Morphometry*

nonF : Non-Fumeurs

ancF : Anciens Fumeurs

Fact : Fumeurs Actifs

N.B. : Pour les Figures 27, 30 ainsi que pour la Table 7, par manque de place, les abréviations des statuts fumeur ont été adaptées et sont : nF pour non-fumeurs, aF pour anciens fumeurs et Fa pour fumeurs actifs.

Introduction générale

Grâce à l'évolution des sciences et particulièrement de la médecine, l'espérance de vie est passée d'une moyenne de 31ans début du XX^{ème} siècle à une moyenne de 65.6 ans au début du XXI^{ème} siècle, dépassant 80 ans dans certains pays (Organisation Mondiale de la santé, 2006). La conséquence de cette augmentation a été un accroissement rapide de la population âgée, amplifié qui plus est par le « baby-boom » du milieu du XX^{ème} siècle. Un effet direct de cet accroissement est une augmentation considérable de la prévalence des démences, faisant de l'identification de ses mécanismes inducteurs un enjeu majeur de santé publique. En effet, l'identification des facteurs modulant le vieillissement cognitif peut permettre à la fois de définir des conduites permettant une amélioration de la qualité de vie des sujets âgés, mais également d'isoler ceux de ces facteurs qui contribuent à la survenue d'un vieillissement pathologique, phase indispensable pour que soit identifiée la physiopathologie de ce vieillissement « anormal ». Dans ce contexte, les enquêtes neuroépidémiologiques chez le sujet âgé jouent un rôle essentiel, car elles permettent de mesurer et de comparer les tailles des effets de différents facteurs de risque. Les très nombreuses études de ce type, transversales et/ou longitudinales, qui ont été mises en œuvre au cours des dernières décennies ont ainsi permis de montrer que de très nombreux facteurs influaient sur le vieillissement cognitif. Une analyse détaillée des cohortes a été réalisée dans le cadre d'un groupe d'action européen (Wardlaw 2013) dont une synthèse est présentée dans ce manuscrit (voir CH2.I).

Dans ces enquêtes, l'imagerie cérébrale, l'RM principalement mais également la TEP plus récemment, a pris un rôle grandissant depuis 20 ans. La raison en est qu'il est communément admis qu'au cours du vieillissement, les modifications fonctionnelles et morphologiques du cerveau précèdent et sont à l'origine des altérations des compétences et performances cognitives. De ce fait, l'imagerie cérébrale moderne, en permettant d'obtenir de façon standardisée, reproductible, et automatique, des mesures de nombreux phénotypes cérébraux modifiés au cours du vieillissement, tels que les volumétries et morphométries tissulaires et régionales, est devenue une composante majeure des enquêtes neuroépidémiologiques. Un des objectifs majeurs de telles enquêtes, est d'identifier, grâce au recueil de données sociodémographiques, biocliniques, et d'imagerie, des marqueurs morphologiques et fonctionnels précoces du vieillissement cérébral, et d'étudier l'effet de certains facteurs de risque sur ces marqueurs.

Notre travail de thèse s'inscrit dans cette problématique dont le Groupe d'Imagerie Neurofonctionnelle et l'unité de Neuroépidémiologie de l'INSERM ont été parmi les

pionniers, et se situe en particulier dans la continuité de travaux précédemment réalisés sur l'étude EVA (thèses de Sebastien Gicquel et d'Hervé Lemaitre) comme sur celle des « 3 Cités » (thèses de Pauline Maillard et de Blandine Grassiot). Ces travaux nous ont permis de bénéficier d'un protocole d'analyse automatisée des images cérébrales, et de nous appuyer sur des études préalables des effets de certains facteurs de risque sur l'atrophie cérébrale du sujet âgé, tels que l'âge, le sexe, le polymorphisme du gène de l'apolipoprotéine E, l'hypertension, le traitement hormonal substitutif, et le niveau d'éducation.

Par rapport à ces travaux antérieurs, mais également vis à vis de la littérature, notre travail a pour originalité de s'être porté sur l'étude du tabagisme comme facteur de risque potentiel du vieillissement cérébral. Bien que clairement identifié comme facteur de risque cardio-vasculaire, le rôle du tabac sur le vieillissement cognitif normal ne fait pas l'objet d'un consensus. Les effets de la nicotine sur le fonctionnement cérébral et cognitif sont en effet de nature complexe et par certains aspects, positifs. Par ailleurs, la littérature sur les effets du tabagisme sur la morphologie cérébrale et son évolution au cours du vieillissement est apparue à la fois restreinte et non consensuelle : en particulier il n'existait pas d'étude portant sur des échantillons de grande taille visant à mesurer les effets du tabagisme sur la volumétrie tissulaire/régionale cérébrale, à comparer les tailles de ces effets avec celles des autres facteurs de risque identifiés.

Un point particulier qui doit être mentionné est que nous avons conduit cette étude en stratifiant l'analyse sur le sexe, ce qui n'est que rarement le cas dans la littérature. La première raison est que des travaux précédents, notamment sur les cohortes EVA et 3C, indiquent des différences quand à l'atrophie liée à l'âge entre les hommes et les femmes. La seconde est que chez les sujets âgés, les caractéristiques du tabagisme, en terme de durée et d'intensité, sont très différents entre hommes et femmes. En fait le sexe est un facteur de confusion très important dans les études chez le sujet âgé et des effets différentiels sur l'atrophie cérébrale des hommes et des femmes ont déjà été mis en évidence pour des facteurs comme l'alcool (Hommer *et al.*, 2001; Anstey *et al.*, 2006; Demirakca *et al.*, 2011), l'indice de masse corporelle ainsi que pour le cholestérol (Longstreth Jr. *et al.*, 2000).

Notre document de thèse s'articule autour de 3 chapitres. Le premier chapitre pose les bases historiques et biologiques de la recherche sur le vieillissement cérébral. Dans le deuxième chapitre est présentée une revue de la littérature sur les facteurs de risque du vieillissement cérébral, et notamment sur le tabagisme. Dans le troisième chapitre, nous

présentons les études réalisées durant ce travail de thèse,: les deux premières études, l'une transversale, l'autre longitudinale, ont pour but la quantification des effets associés à la consommation de tabac sur la volumétrie cérébrale globale ainsi que sur certaines régions d'intérêt, chez les hommes et les femmes séparément afin d'attester de possibles différences, la troisième étude ayant pour objectif d'identifier d'éventuels effets locaux de la consommation de tabac.

CHAPITRE 1 : Étude du vieillissement cérébral : perspective historique, neurobiologique et méthodologique

I. HISTORIQUE DE LA RECHERCHE SUR LE VIEILLISSEMENT CÉRÉBRAL

L'étude du vieillissement cérébral trouve son origine dans la première référence à une déficience mentale liée à l'âge, attribuée à Ptahhotep, vizir du Pharaon Djedkarê-Isési. Il déclare « La bouche devient silencieuse, la parole s'affaiblit, l'esprit s'efface, sans se souvenir du jour précédent » (Ptahhotep, Les Préceptes de Ptahotep, traduction de Christian Jacq). S'ensuit Pythagore au XII^{ème} siècle avant-JC, qui définit le *senium* comme étant la période de la vie après l'âge de 63 ans caractérisée par un déclin et une décadence du corps humain ainsi qu'une régression des capacités mentales (Berchtold and Cotman, 1998). Contrairement à ce que l'on pourrait penser compte tenu de l'espérance de vie de l'époque, cette régression des capacités mentales était suffisamment courante pour influencer la législation. Ainsi au V^{ème} siècle avant-JC, le juge grec Solon, amenda une loi sur les héritages et prévint la possibilité d'inclure au testament un bénéficiaire extra-familial sous condition que la décision ne soit pas influencée par la douleur, la violence ou par la sénilité de la vieillesse (Byerley and Timbs, 1828). Les écrits suivants d'Hippocrate, de Platon et d'Aristote tendent à indiquer que le *senium* était alors perçu comme inhérent à l'âge avancé. De plus, Aristote pensait le cœur comme étant le siège de l'intelligence humaine, reléguant le cerveau au rôle de glande froide et humide destinée à refroidir le cœur, l'état de santé et le tempérament des individus dépendant de l'équilibre des quatre humeurs (le sang, la lymphe, la bile jaune et la bile noire) (Berchtold and Cotman, 1998). Au II^{ème} siècle av. J.-C., Cicéron fit le premier la constatation que la démence sénile n'était pas la caractéristique de tous les hommes âgés mais de ceux « faible de volonté ». « Et ce n'est pas à la santé du corps que nous devons veiller seulement, mais aussi et surtout à celle de l'esprit et de l'âme; car il en est de la vie de l'esprit comme de la flamme d'une lampe : il faut l'entretenir et y verser de l'huile, autrement à la longue elle s'éteint. L'exercice finit par appesantir le corps, mais il donne toujours plus de ressort à l'esprit » (Cicéron MT, -44). Mais l'influence d'Aristote empêcha cette idée de s'ancrer. En effet quatre siècles plus tard, Claude Galien (129-200) inclut la démence (*morosis*, décrivant les personnes atteintes comme « *celles chez qui la connaissance des lettres et des autres arts est oblitérée ; en effet elles ne peuvent même se rappeler de leur nom* ») dans sa liste des maladies mentales et mit en avant l'âge avancé comme facteur favorisant son apparition. Néanmoins, il définissait l'âge avancé comme « non naturel comme le sont l'alimentation ou la croissance ; les deux derniers peuvent être considérés comme des processus naturels,

alors que le premier non, étant à la place une infection inévitable du corps » (Halpert, 1983). On peut constater que le déclin cognitif était à cette époque reconnu comme une maladie, changeant la définition de sénile comme étant d'être « d'âge avancé » à celle de « dément » mais que cette affliction était également perçue comme irrémédiable. De plus, l'absence de méthodes scientifiques standardisées conduisait les savants de l'époque à regrouper dans ce qu'ils appelaient « la démence liée à l'âge » toutes les formes de démences séniles connues aujourd'hui (telles que infections du SNC, carence en vitamine, dépression, infarctus cérébral, maladie d'Alzheimer, etc.).

Vient ensuite la période du Moyen-Âge avec la domination sans partage de l'église sur l'éducation et le savoir. La maladie était perçue comme un châtement lié aux péchés et la médecine avait perdu son influence. Un moine franciscain, Roger Bacon (1214-1294), a fait de nombreuses observations et inventions malgré la position de l'église. Surnommé *Doctor mirabilis*, il promut l'expérience scientifique, la préférant à l'observation et à la rhétorique. On peut trouver dans ses écrits des références à des véhicules sans traction animale, des machines volantes et même des sous-marins, plus de deux siècles avant Léonard De Vinci (*Epistola de secretis operibus naturae et artis et de nullitate magiae*, lettre sur les prodiges de la nature et sur la nullité de la magie, 1260). Bacon, emprisonné plutôt qu'exécuté par l'église du fait de ses opinions, écrivit les "Méthodes de prévention de l'apparition de la sénilité". Dans cet ouvrage il place la mémoire, le raisonnement et l'imagination respectivement dans les parties postérieure, médiane et antérieure du cerveau. Il s'oppose ainsi à la localisation Aristotélicienne des facultés intellectuelles de l'homme dans le cœur, mais conserve l'aspect inéluctable de la sénilité. Au cours du Moyen-Âge, les dissections de cadavres humains sont tolérées par l'église, accordant des privilèges à certaines confréries comme l'indiquent les travaux de Mondino de'Liuzzi (1270-1326). Mais c'est durant le XIVème siècle que la dissection et l'anatomie humaine prennent leur essor. Le pape Sixte IV publia une bulle déclarant la dissection humaine autorisée tant que le clergé local ne s'y oppose pas. La même année, Michel-Ange se voit autorisé la pratique de dissection humaine par l'église du Saint-Esprit de Florence. Mais les accords ne sont pas toujours donnés, comme pour André Vésale (1514-1564) qui durant ses études (1533-1536) se trouva forcé de récupérer les cadavres du gibet de Montfaucon et au cimetière des Innocents à Paris. En 1537, le pape Clément VII autorise formellement les dissections de cadavres humains. C'est ainsi qu'arrivé à Padoue cette année-là, Vésale pourra s'adonner et enseigner la dissection. S'ensuivra un essor exceptionnel de l'anatomie humaine jusqu'à l'ébauche de la méthode expérimentale (décrivant les

méthodes qu'il utilise afin que ses contemporains puissent vérifier) et de l'histologie par Marcello Mapighi, suivi par Xavier Bichat (Traité des membranes, 1800).

Jusqu'au XIX^{ème} siècle, peu de progrès furent faits concernant le déclin cognitif, mais la littérature révèle qu'à partir du moyen-âge, cette notion n'est plus réservée à la communauté scientifique et on y trouve des références chez Chaucer ou Shakespeare (Berchtold and Cotman, 1998). Philip Barrough a ainsi écrit un livre publié en 1583, *The method of phisicke*, dans lequel les maladies mentales de l'époque sont listées selon la classification de Galien. Des distinctions sont faites entre la frénésie (délire fiévreux), la manie (folie sans fièvre), la léthargie, la mélancolie, le coma, la congélation (catatonie), l'apoplexie (paralysie) et la perte de mémoire. Ces maladies, avec l'héritage persistant de Galien et d'Hippocrate, conservaient leurs origines dans un déséquilibre des quatre humeurs. Mais le relâchement du carcan de l'église sur la science permit à nombre de scientifiques de remettre les anciens dogmes en question. Ainsi en 1684, Thomas Willis, médecin personnel du roi Charles II, décrit une classification des maladies mentales basée sur les observations cliniques et anatomiques. Il redonne son rôle au cerveau (« stupidity or morosis or foolishness [...] signifies a defect of intellect and judgement, yet it is not improperly reckoned among the Disease of the head or brain ») et décrit les causes de l'imbécillité (« foolishness ») : facteur congénital, âge, blessure à la tête, abus d'alcool ou de drogue, maladie et épilepsie prolongée (Berchtold and Cotman, 1998). Certains se sont essayés à rechercher des corrélats anatomiques des maladies mentales sur le cerveau. Mais la plupart des maladies mentales n'ont pas de corrélats anatomiques évidents, du moins pas à l'œil nu ou à la loupe. Les observations se basaient alors sur la texture du cerveau (dureté, friabilité, humidité,) rejoignant par raccourci les écrits de Galien pour qui « vieux » indiquait « froid et sec » et entraient ainsi dans les perturbations des humeurs. Le premier écrit décrivant une atrophie cérébrale peut-être attribué à Matthew Baillie (1761-1823) détaillant que chez le sujet dément : « le cerveau est parfois trouvé considérablement plus ferme que dans l'état sain. Par conséquent, les ventricules sont parfois élargis en taille et pleins d'eau ». En 1776, William Cullen inscrit la démence sénile, pour la première fois, comme entité médicale dans son classement des pathologies, définie comme la « décadence de la perception et de la mémoire, dans la vieillesse ». (Berchtold and Cotman, 1998).

Le début du XIX^{ème} siècle marque une petite révolution dans l'univers des maladies mentales. Philippe Pinel (1745-1826) réforma le statut des maisons d'aliénations, les faisant passer du statut d'asile, lieu de contention physique, au statut d'hôpital

psychiatrique. De son fait, les observations cliniques psychiatriques sont multipliées, les différentes maladies furent isolées les unes des autres et finirent classées par l'élève de Pinel, Jean-Etienne Esquirol (1772-1840) dans ce qui sera la base de la classification moderne des maladies mentales. Il affina aussi la classification des démences, différenciant *dementia* (la démence liée à l'âge) et *amentia* (la démence congénitale) contrairement à Thomas Willis qui décrivait la même maladie avec deux origines différentes : « L'homme en démence est privé des biens dont il jouissait autrefois. C'est un riche devenu pauvre ; l'idiot a toujours été dans l'infortune et la misère. L'état de l'homme en démence peut varier, celui de l'idiot est toujours le même » (1818). Il fit un peu plus tôt une description du cours de la démence : « La démence est une affection cérébrale, ordinairement sans fièvre, et chronique, caractérisée par l'affaiblissement de la sensibilité, de l'intelligence et de la volonté : l'incohérence des idées, le défaut de spontanéité intellectuelle et morale sont les signes de cette affection. » (1814) (Berchtold and Cotman, 1998).

Suivant cette période, Charles Jean-Baptiste Parchappe, par son « Traité théorique et pratique de la Folie, Observations particulières et documents nécroscopiques » publié en 1841, peut être considéré comme le premier à établir un corrélat anatomique de la démence. En effet, il établit grâce à de nombreuses dissections que « le décroissement graduel du cerveau en raison de la dégradation successive de l'intelligence dans la folie simple, est, pour moi, mis hors de doutes par les faits que j'ai observé » (p 348) et « Les différences qui tiennent à l'influence du degré de la folie, sont plus considérables que celles qui tiennent à l'influence du degré de la vieillesse » (p 350). Bénédict Auguste Morel acquiesce en 1860 dans son « Traité des Maladies Mentale » en commentant: « cette diminution, qui est un fait constant dans la démence, est aussi le résultat naturel de l'âge et de la décadence inhérente à la nature humaine. Il existe donc, à proprement parler, deux espèces de démences : la démence naturelle, et la démence résultant d'un état pathologique du cerveau qui a atteint les individus avant l'âge fatal assigné à la continuité et aux progrès de nos aptitudes intellectuelles. » (p 838-839). Il commence donc à y avoir distinction entre deux phénomènes apparemment liés, l'atrophie normale liée à l'âge et l'atrophie pathologique liée à la démence. Parchappe nuance aussi l'intérêt du poids du cerveau comme indicateur d'atrophie: « il faudrait bien se garder de prendre, pour élément absolu de décision, le poids du cerveau, s'il s'agissait de constater l'existence ou l'absence de l'atrophie, dans tel ou tel cas particulier. » (p 350) et donne d'autres indicateurs, tels que l'épaisseur corticale, encore utilisée aujourd'hui : « la balance est un instrument d'observations rigoureuses à certain égard. [...] Ces considérations sont tout-à-

fait applicables à un autre mode d'appréciation de l'atrophie, et qui consiste à mesurer les dimensions des parties atrophiées. [...] L'amincissement de la couche corticale [...] qui varie d'un tiers à deux tiers de l'épaisseur de la couche, se constate très bien par simple inspection » (p 351). Dès lors, les descriptions de motifs d'atrophie cérébrale fleurissent dans la littérature : « *instead of sulci meeting, they are widely separated and their interval filled with serum and which, on being removed with the pia mater, the full depth of the sulci can be seen* » (Wilks, 1864).

La forte incidence de parésie généralisée (due à la neurosyphilis), estimée à 10% des démences à l'époque (McGrew, 1985), et la réduction du diamètre des vaisseaux sanguins en résultant, amena les observateurs de l'époque à s'intéresser aux changements cérébrovasculaires dans les démences en général. De ces études, fut dérivée l'association de l'atrophie cérébrale à la mort cellulaire due aux lésions focales suivant les attaques cérébrales, la démence étant associée à la « graduelle strangulation de l'irrigation cérébrale » (Torack, 1983). La fin du XIX^{ème} siècle voit l'essor de la microscopie et des colorations à visée histologique telle que le carmin. L'exploration microscopique permet en 1892 (Blocq et Marinesco, 1892) la mise en évidence de la sclérose miliaire (accumulation en plaque de substance non identifiée) chez un patient épileptique âgé, en 1898 par Redlich chez deux patients âgés déments, et en 1907 par Fisher chez 12 de 16 déments séniles mais chez aucun patient atteint de paralysie progressive, de psychose fonctionnelle ou chez des sujets sains (Berchtold and Cotman, 1998). Fisher proposa alors de considérer ces plaques comme un marqueur de la démence sénile. Pendant ce temps, Bielschowsky (utilisant la coloration du même nom, version modifiée de la coloration argent de Golgi) put observer les composants intracellulaires et en 1903 identifia des structures en fil dans les neurones qu'il appela neurofibrilles. En 1907 en utilisant la même coloration, Alois Alzheimer décrivit des neurofibrilles qui fixaient différemment le colorant et étaient plus épaisses chez une patiente atteinte de démence à l'âge de 51 ans et morte quelques années plus tard. Dans les stades plus avancés, le nombre de neurofibrilles anormales augmentait, puis ces fibrilles s'aggloméraient en nœuds pour graduellement atteindre la surface cellulaire. Le noyau et la cellule finissaient par disparaître, ne laissant que des nœuds de fibrilles. Il remarqua aussi la présence de plaques, celles décrites par Fisher la même année, sur le cortex. Cette patiente était une exception parmi toutes les observations réalisées par Alzheimer. L'âge de début de la démence, la progression rapide et la neuropathologie unique, avec près de 25% des cellules ganglionnaires concernées par la présence de nœuds de neurofibrilles, écartaient la classification dans une des démences décrites jusqu'alors. Durant les cinq années suivantes, 11 cas de démence présénile (avant

65 ans) avec le même tableau pathologique furent décrits comme touchés par la maladie d'Alzheimer. Jusqu'en 1940, la généralisation de l'utilisation de la coloration argent Bielschowsky permit de révéler la présence de ces plaques dans d'autres types de démence ainsi que dans d'autres types de maladies cérébrales. Surtout en 1933, un rapport de Gellerstedt révéla la présence de ces plaques et nœuds chez 80% de sujets sains après 65 ans. Le débat sur la spécificité de la maladie d'Alzheimer par rapport à la démence sénile porta alors sur la sévérité du tableau clinique identique pour l'époque : atrophie sévère des lobes frontaux, occipitaux ainsi que de l'hippocampe et du fornix, les couches III et V du cortex subissant une grande perte cellulaire, présence de plaques particulièrement dans les lobes frontaux et occipitaux, l'hippocampe et l'insula, accompagnées des nœuds de neurofibrilles surtout dans les lobes frontaux et temporaux, majoritairement dans l'hippocampe (Greenfield's Neuropathology, 1963). Dans les années 1960, il était couramment accepté que l'âge d'apparition de ces phénotypes fût la différence la plus constante. Certains dès 1930 pointaient des cas familiaux de démence type Alzheimer (Lowenberg, 1934; Feldman 1963), ce qui sera confirmé plus tard par de nombreuses études génétiques. Dans la même période, l'utilisation de méthodes quantitatives permettait d'affiner le tableau clinique de la maladie d'Alzheimer (Berchtold and Cotman, 1998) et a permis de mieux différencier les différents sous-types des démences séniles.

Le début des années 70 marque le début de la neuroimagerie avec l'invention et l'utilisation croissante des techniques dérivées (rayons X, résonance magnétique nucléaire, etc.) pour caractériser les changements morphologiques associés à l'âge et la démence dans le but d'identifier des marqueurs permettant le diagnostic sans attendre l'analyse post-mortem, seul moyen de vérifier la présence ou l'absence de la maladie à l'époque (Xanthakos *et al.*, 1996). La variabilité des mesures, due à la nouveauté de la technique et l'absence de standardisation ou d'automatisation dans les méthodes de traitement et d'analyse des images, rendait les résultats très variables et la comparaison difficile. Néanmoins, l'ensemble des études était en accord sur la présence d'atrophie massive chez les patients confirmés comme porteurs de la maladie en post-mortem, avec un chevauchement des variations phénotypiques dues à l'âge et à la maladie d'Alzheimer. Une atrophie de l'hippocampe très marquée était considérée comme le marqueur anatomique le plus fiable. En effet, deux études avaient montré des différences significatives entre des sujets contrôles et des patients atteints (Seab *et al.*, 1988; Kesslak *et al.*, 1991), bien que cela ne soit pas systématiquement le cas (Jack *et al.*, 1992; Scheltens *et al.*, 1992; Erkinjuntti T *et al.*, 1993). De plus, l'atrophie de l'hippocampe était rarement associée aux mesures cognitives générales diminuant avec la maladie

d'Alzheimer comme le MMSE (Damasio *et al.*, 1985; Seab *et al.*, 1988) alors que l'atrophie cérébrale globale était un marqueur associé de manière constante avec le MMSE (Seab *et al.*, 1988). Par contre, l'atrophie hippocampique était associée à une réduction des performances dans les tests de mémoire, également un symptôme de la maladie d'Alzheimer (Kesslak *et al.*, 1991; Scheltens *et al.*, 1992).

Aujourd'hui, si la délimitation entre la maladie d'Alzheimer et le vieillissement neuroanatomique « normal » est plus claire, un consensus général reste encore à atteindre. On sait que la phase prodromale est longue et surtout asymptomatique cognitivement, laissant la possibilité d'inclusion de sujets « sains » en phase prodromale présentant une atrophie plus marquée susceptible de brouiller la limite entre vieillissement normal et maladie d'Alzheimer (Sliwinski and Buschke, 1999). Inversement, des critères trop stringents pourraient limiter l'échantillon à une population extrêmement saine, absolument pas représentative de la population générale et donc limitant la portée des résultats.

L'atrophie associée à Alzheimer semble toutefois débiter dans l'hippocampe et le cortex entorhinal, s'étendant par la suite aux aires associatives dans le cortex pariétal médial, temporal latéral et frontal avant de se généraliser à l'ensemble du cortex (Fjell *et al.*, 2014).

On peut voir sur la Figure 1 que des vitesses d'atrophie sont en mesure d'établir des différences marquées entre sujets sains et sujets avec une déficience cognitive légère (MCI) ou avec la maladie d'Alzheimer. Néanmoins, si les avancées techniques et les standardisations facilitent les comparaisons, il reste toujours vrai que c'est l'atrophie au niveau du cortex entorhinal et de l'hippocampe qui sont les plus caractéristiques dans ces dichotomies (Fjell and Walhovd, 2010).

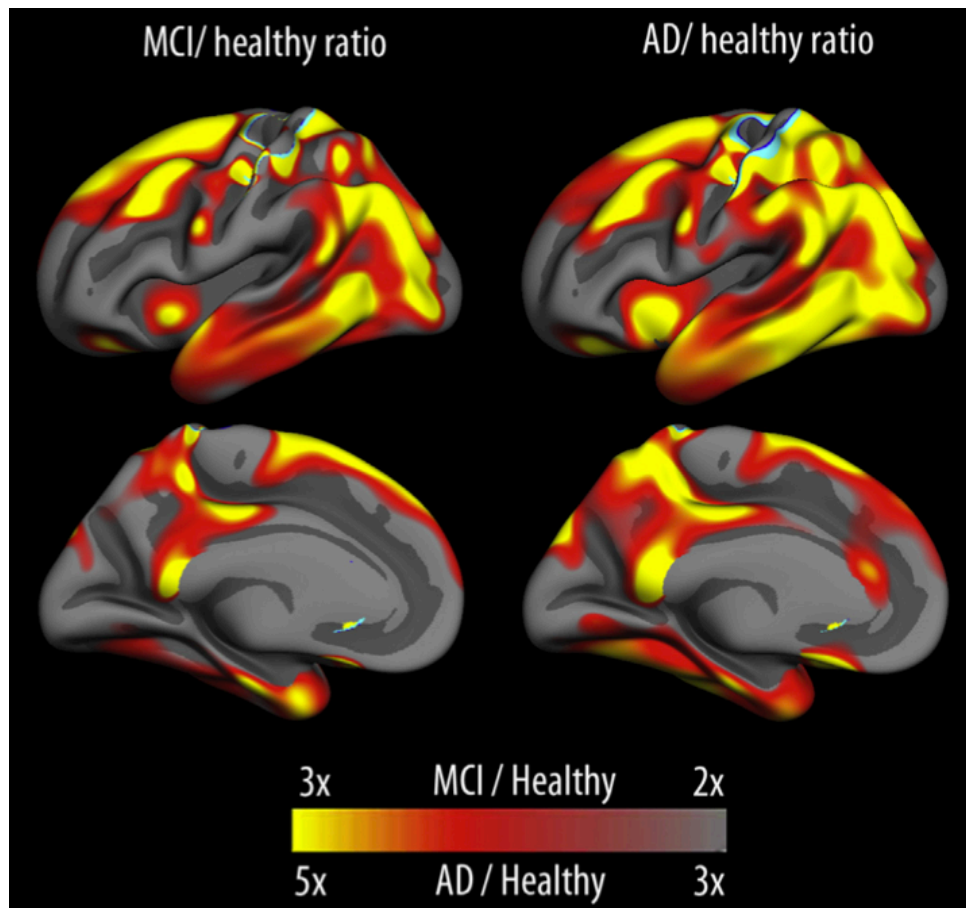


Figure 1: Différences dans les vitesses d'atrophie corticale entre des sujets sains, des sujets MCI (Mild Cognitive Impairment) et des sujets atteints d'Alzheimer. Extrait de Fjell et al., 2014, données issues de l'ADNI (Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative).

De plus, l'évolution technique de l'imagerie par IRM avec une augmentation de la puissance des champs utilisés permet de descendre en-dessous de la limite millimétrique. Ainsi, l'atrophie de l'hippocampe qui est associée avec la maladie d'Alzheimer, la dépression, la schizophrénie, les maladies vasculaires, le stress post-traumatique ou le vieillissement présenterait des différences au niveau des régions hippocampiques (voir Figure 2).

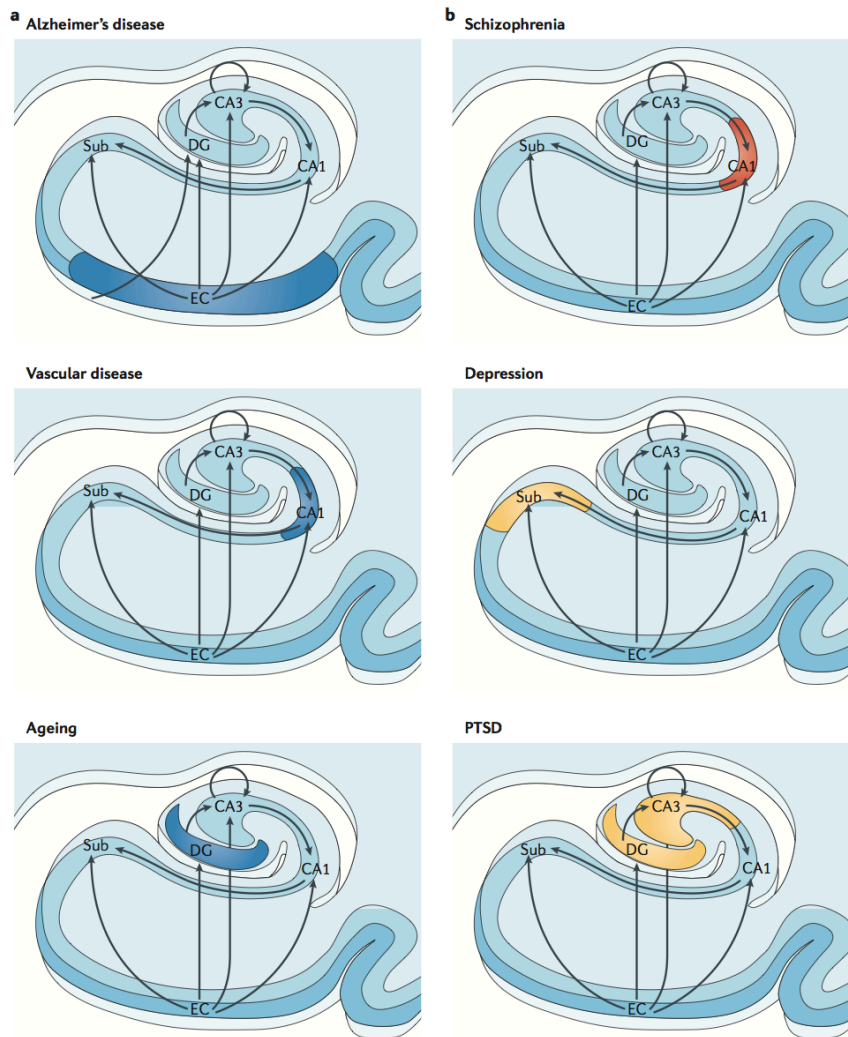


Figure 2: Vulnérabilité régionale et état métabolique de la formation hippocampique différenciant les pathologies. a : Maladies affectant l'hippocampe associées à l'âge, b : maladies affectant l'hippocampe à l'adolescence. Extrait de Small et al., 2011.

On peut alors remarquer que durant le vieillissement, c'est le *gyrus denté* qui présente un hypermétabolisme et une atrophie, alors que pour la maladie d'Alzheimer c'est le cortex entorhinal et dans les maladies vasculaires c'est la région CA1. Les maladies affectant l'hippocampe plutôt au début de la vie adulte comme la schizophrénie, la dépression ou le stress post-traumatique (Small *et al.*, 2011) présentent aussi des différences du même ordre. Si cela permet de distinguer ces pathologies, les mécanismes sous-jacents ne sont pas identifiés.

II. BASES MOLÉCULAIRES ET CELLULAIRES DU VIEILLISSEMENT CÉRÉBRAL

Cette partie commence sur un rappel fastidieux de la composition cellulaire du système nerveux central. Cela pourrait faire partie des annexes mais l'intégration des processus moléculaires régissant le vieillissement cérébral nous paraît primordiale pour l'identification de ceux qui peuvent se voir modulés par la consommation de tabac et induisant son association avec l'atrophie cérébrale.

1. RAPPEL SUR L'ARCHITECTURE MICROSCOPIQUE DU CERVEAU ADULTE

Le cerveau humain est une structure biologique des plus complexes, organisée autour de 85 à 100 milliards de cellules excitables, les neurones, assurant la transmission d'un signal bioélectrique (le potentiel d'action) au travers de 1 à 100 000 synapses par neurones (Herculano-Houzel and Herculano-Houzel, 2009). Le fonctionnement des neurones est soutenu par les cellules gliales dont les rôles de nutrition, protection et développement du système nerveux sont essentiels. Ce sont les deux types de cellules du système nerveux qui sont composés de plusieurs sous types cellulaires en fonction de leurs caractéristiques fonctionnelles et structurales. Les informations nerveuses vont et viennent entre le système nerveux central (cerveau, cervelet et moelle épinière) et le système nerveux périphérique (vers les organes, les muscles, l'épiderme, etc.) via les axones et les dendrites des neurones, formant un réseau très complexe.

A. Neurones.

La mise au point de la coloration de Golgi en 1873 fut l'étape initiale permettant la description de la structure des neurones au microscope. Jusqu'alors, les colorations ne permettaient pas de distinguer les extensions filamenteuses de ces cellules, les axones et les dendrites aussi appelés neurites, qui étaient trop fines pour être distinguées dans l'enchevêtrement dense de cellules qu'est le cerveau. La coloration de Golgi ne colore que quelques cellules, mais dans leur intégralité. Il est alors possible d'examiner les neurites

non couverts par des cellules adjacentes. Bien que les neurones présentent une grande diversité de formes et de tailles (voir Figure 3), leur organisation globale est systématiquement la même. Ils sont organisés autour du corps cellulaire (le soma ou péricaryon) duquel émergent les dendrites et l'axone. Dans les neurones, le potentiel d'action est transmis par l'axone du neurone présynaptique, et est reçu par le(s) dendrite(s) ou le soma du neurone postsynaptique via une(des) synapse(s).

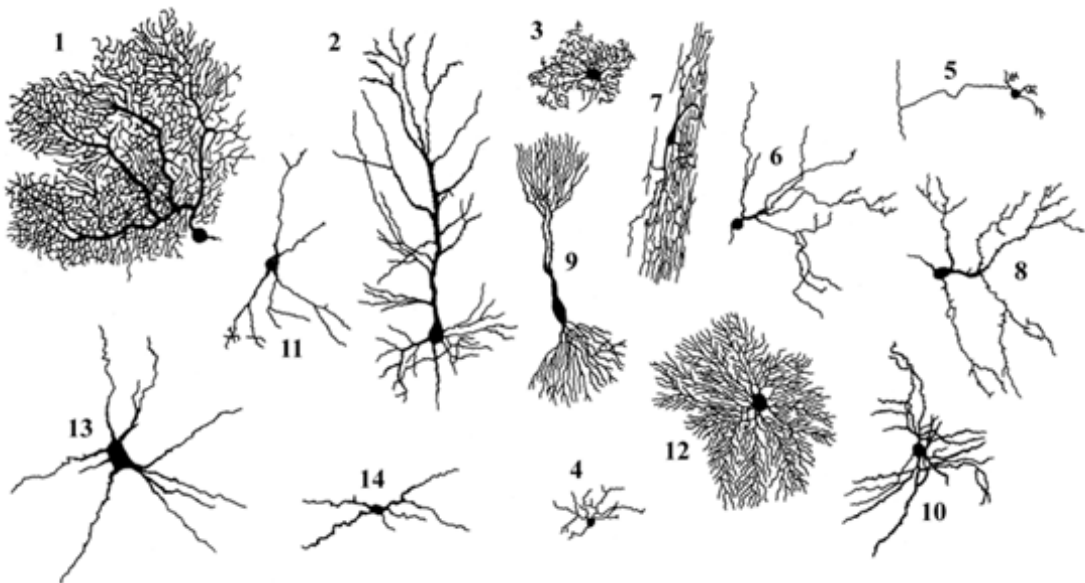


Figure 3 - Exemples de types de neurones. Cellule de Purkinje (1), cellule pyramidale (2), cellule du noyau de l'olive (3), petite cellule de la substance gélatineuse (4), cellule granulaire (5), cellule ovoïde (6), cellule en fuseau de la substance gélatineuse (7), grande cellule du noyau trigéminal (8), cellule en double pyramide (9), neurone du putamen (10), cellule du globus pallidus (11), cellule du thalamus (12), grande cellule de la formation réticulaire (13) et petite cellule de la formation réticulaire (14). Extrait de Fischbach, 1992.

a- Les axones

Chaque neurone ne dispose que d'un axone, structure tubulaire supportée par un important réseau de microtubules, microfilaments et neurofilaments du cytosquelette. Les axones ne disposent pas des organelles nécessaires pour la synthèse protéique. Ainsi l'axone est dépendant d'un réseau de microtubules qui transporte les molécules nécessaires à la synapse et à l'axone depuis le soma. Un axone peut faire entre 1mm et 1m de long, les plus longs faisant partie du nerf sciatique partant de la base de la colonne vertébrale jusqu'au bout des gros orteils. Le diamètre des axones varie aussi, et ce diamètre fait varier la vitesse de conduction de la transmission nerveuse. Les axones sont entourés de myéline, qui détermine le diamètre final, du cône d'émergence, lieu de génération du potentiel d'action, jusqu'à la ou les synapse(s). La myéline, majoritairement composée d'acides gras, isole électriquement l'axone du milieu extracellulaire par segments. En effet le manteau de myéline est segmenté le long de

l'axone, chaque portion étant séparée de la suivante par un nœud de Ranvier où sont concentrés les canaux ioniques (voir Figure 4). La transmission nerveuse nécessitant des échanges ioniques entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire de l'axone, la transmission « saute » d'un nœud de Ranvier au suivant. On appelle cela la conduction saltatoire et la transmission nerveuse s'en trouve fortement accélérée.

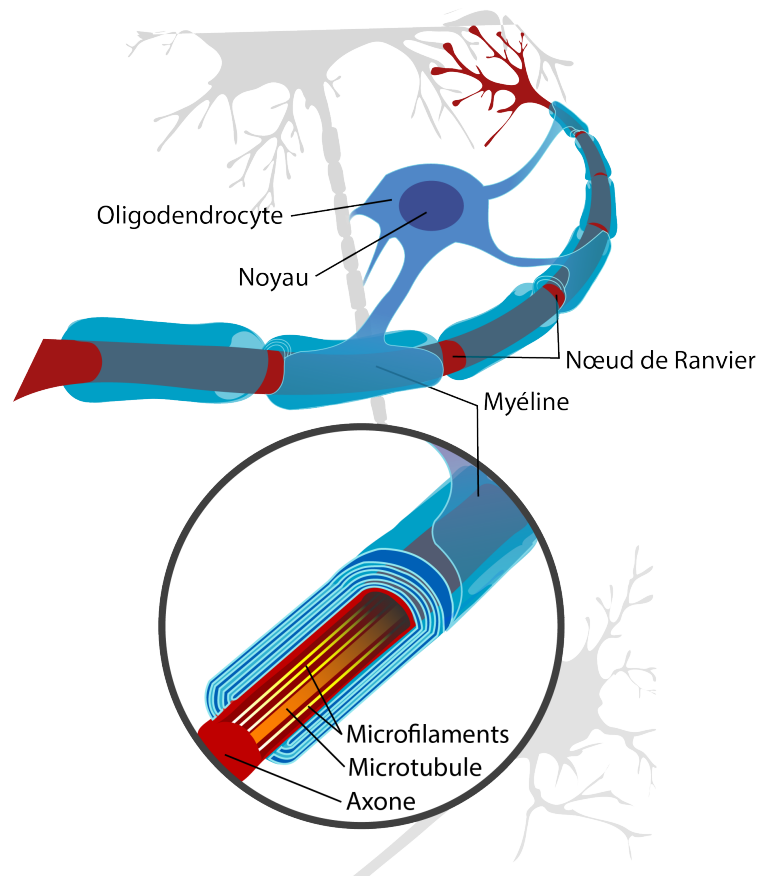


Figure 4 - Représentation schématique d'un axone, de son cytosquelette et de la myéline. Image obtenue sur le site de Wikimedia Commons (commons.wikimedia.org), « Neuron with oligodendrocyte and myelin sheath », traduite de l'anglais.

b- Les dendrites

Les dendrites sont des extensions du soma, il y en a une ou plusieurs par cellule. Leur arborisation confère sa forme au neurone. Elles disposent de la machinerie cellulaire nécessaire à la synthèse protéique avec des ARN provenant du soma. Les dendrites sont recouvertes de nombreuses petites excroissances, les épines dendritiques, où sont situées majoritairement les synapses dendritiques. Ces dernières sont le site de réception de l'influx nerveux (voir I.1.A.d).

c- Le soma

La taille et la forme du corps cellulaire sont, comme l'arborisation dendritique, caractéristiques de chaque type de neurone. Le soma est le centre métabolique de la cellule ; sa taille dépend principalement des besoins métaboliques du type de cellule neuronales (synthèse protéique, dégradation de molécule, maintien du cytosquelette, synthèse des neurotransmetteurs ou de leurs précurseurs métaboliques). Le soma est le centre de réception et de traitement des influx nerveux des différentes synapses et sera à l'origine de la génération du potentiel d'action pour l'axone.

La génération de l'influx nerveux est déterminé par le niveau de dépolarisation atteint par la membrane cellulaire via la sommation des différentes informations nerveuses (potentiels postsynaptiques, PPS, excitateurs ou inhibiteurs) transmises par les synapses. Si le potentiel de la membrane cellulaire passe sous le potentiel seuil, déterminé selon l'équilibre ionique entre le neurone et son milieu extracellulaire, il y aura génération d'un potentiel d'action. La sommation des potentiels postsynaptiques est à la fois spatiale (différents PPS arrivant sur plusieurs synapses d'un même dendrite) et temporelle (différents PPS arrivant sur une même synapse très rapidement). Il est rare qu'un seul potentiel d'action dépolarise directement le neurone postsynaptique (sauf synapses électriques, voir ci-après).

d- Les synapses, les neurotransmetteurs et leurs récepteurs.

Chaque neurone comporte en moyenne 10 000 synapses que l'on peut catégoriser en deux grandes familles : les synapses électriques et les synapses chimiques (voir Figure 5). Dans le cas des synapses électriques, le courant ionique de dépolarisation passe directement d'une cellule à l'autre *via* des jonctions étanches. Ces synapses, qui jouent un rôle important dans le système nerveux immature, sont rares chez l'adulte. Par conséquent, la très grande majorité des synapses utilise ainsi un (ou plusieurs) neurotransmetteur(s) produit(s) par le neurone présynaptique et qui va influencer sur l'activité de la membrane postsynaptique. L'effet est excitateur lorsque le mouvement des ions augmente le potentiel de membrane vers une valeur proche du seuil de déclenchement du potentiel d'action (autour de -45mV) ; il est inhibiteur lorsque le potentiel de membrane est diminué par rapport à sa valeur d'équilibre (autour de -65mV).

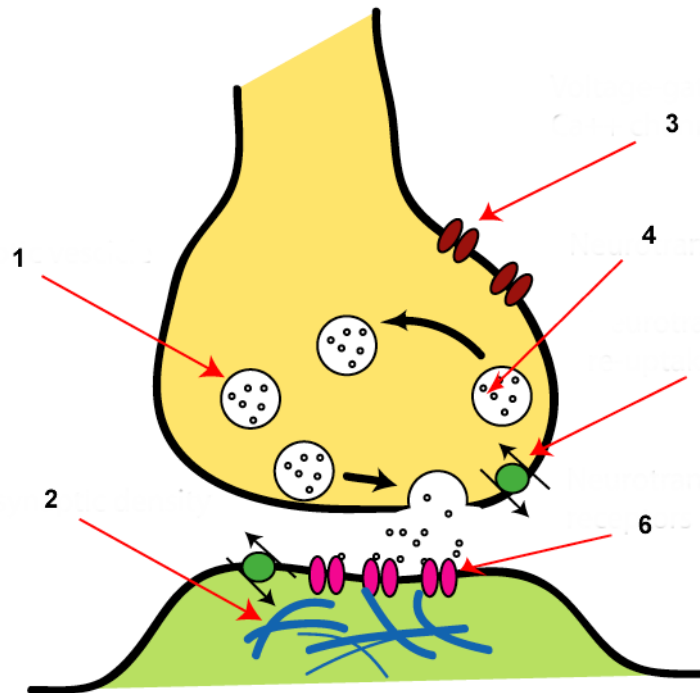


Figure 5 - Synapse chimique. En jaune le neurone pré-synaptique, en vert le neurone post-synaptique. 1 : vésicule contenant les neurotransmetteurs, 2 : protéines de la densité post-synaptique, 3 : canaux calciques, 4 : neurotransmetteurs, 5 : transporteur du neurotransmetteur pour recapture, 6 : récepteur post-synaptique. Image obtenue sur le site de Wikimedia Commons (commons.wikimedia.org), « Synapse Illustration Unlabelled » et adaptée.

Les neurotransmetteurs sont contenus dans une vésicule au niveau du neurone présynaptique et sont libérés dans la fente synaptique (l'espace entre les membranes des deux cellules) lors de l'arrivée d'un potentiel d'action afin d'aller agir sur le neurone postsynaptique *via* des récepteurs membranaires. L'arrêt de la transmission se fait alors par recapture du neurotransmetteur par le neurone présynaptique ou une cellule gliale (voir I.1.B) ou dégradation par des enzymes dans la fente synaptique.

Il existe un grand nombre de neurotransmetteurs : les monoamines (synthétisés à partir d'un acide aminé), les acides aminés, les peptides (synthétisés comme toute protéine dans le soma) et d'autres (tels que l'acétylcholine et le monoxyde d'azote). Bien que l'on puisse classer certaines de ces molécules comme excitatrices (le glutamate) ou inhibitrices (le GABA, qui est excitateur durant le développement cérébral), l'action est réalisée par les récepteurs postsynaptiques activés par les neurotransmetteurs. Cette classification est de fait trop simpliste.

Les récepteurs postsynaptiques sont des protéines transmembranaires permettant la transduction du signal électrique du neurone présynaptique. On retrouve deux catégories de récepteurs : les ionotropiques et les métabotropiques.

Les récepteurs ionotropiques sont des canaux ioniques qui s'ouvrent lors de la liaison du neurotransmetteur. Ils sont composés de 3 à 5 sous-unités protéiques, qui existent en grand nombre. Par exemple les récepteurs ionotropiques du GABA sont composés de 5 sous-unités parmi les 19 sous-unités possibles. Selon l'assemblage en sous-unités du récepteur, son affinité pour les ligands, sa probabilité d'ouverture, sa conductance ionique et d'autres caractéristiques varient. Des ions passent dans le canal ionique du récepteur lors de l'ouverture. L'entrée de cations dépolarise la membrane postsynaptique (excitation) et l'entrée d'anions l'hyperpolarise (inhibition). Les ions pouvant passer par le récepteur dépendent du type et de la composition en sous-unités de celui-ci. Les récepteurs peuvent aussi posséder deux sites de liaisons (par exemple les récepteurs NMDA avec glutamate et glycine ou D-sérine), ou un site de modulation (par exemple les récepteurs GABA par les benzodiazépines),

Les récepteurs métabotropiques ont une fonction différente. Alors que les récepteurs ionotropiques permettent une réponse rapide et à très court terme (de l'ordre de la centaine de millisecondes), les récepteurs métabotropiques ont une transduction plus longue et leurs effets durent plus longtemps (de la seconde à quelques minutes). Ils ont pour rôle d'activer un second messager (protéine G, kinase, cyclase, etc.), peuvent ouvrir et fermer des canaux ioniques (modulation de la polarisation membranaire), moduler la libération des neurotransmetteurs lorsqu'ils sont présents au niveau présynaptique, etc.

Bien que cela soit simplifié à l'extrême, on peut malgré tout voir que l'ensemble de ces mécanismes permettent une très grande finesse de modulation de la transmission et de l'intégration de l'influx nerveux par les neurones.

B. Cellules gliales

Les cellules gliales sont le deuxième type cellulaire majoritaire du système nerveux central. L'estimation du rapport cellulaire glie/neurones varie entre 0.23 dans le cervelet et 15.41 dans la substance blanche corticale (Azevedo *et al.*, 2009) selon des études récentes, avec une moyenne de 1 sur l'intégralité du cerveau. Ceci s'oppose à ce que l'on retrouve dans beaucoup de manuels qui donnent un ratio allant jusqu'à 50/1 en faveur des cellules gliales (Hilgetag and Barbas, 2009).

Comme leur nom l'indique (du grec *γλία* (glia), « la colle ») ces cellules ont pour première fonction le support des neurones, assurant l'homéostasie du milieu extérieur, la

barrière hémato-encéphalique ainsi que des fonctions du système immunitaire (la barrière hémato-encéphalique représentant une barrière immunitaire).

On peut différencier deux types de cellules gliales : la macroglie qui correspond aux astrocytes et aux oligodendrocytes, et la microglie qui, elle, regroupe des cellules équivalentes aux macrophages supportant la fonction immunitaire du système nerveux central.

a- Macroglie

Les astrocytes sont présents dans la substance grise et la substance blanche. Ils participent à la barrière hémato-encéphalique en interagissant avec les cellules endothéliales. Mais ils sont aussi responsables de l'apport en nutriments des neurones, régulent le flux sanguin, participent à la neurotransmission et maintiennent la balance homéostatique du milieu extracellulaire. Ils participent aussi à la défense immunitaire avec une fonction limitée de phagocytose et une fonction d'astrogliose (en participant à la cicatrisation tissulaire cérébrale et à la réponse inflammatoire). Morphologiquement il y a principalement deux types d'astrocytes. Les astrocytes fibreux présents principalement dans la substance blanche, ils peuvent présenter des prolongements formant des pieds périvasculaires en participant à la barrière hémato-encéphalique avec les cellules endothéliales. Les astrocytes protoplasmiques quand à eux présentent des prolongements courts et fortement ramifiés et sont présents principalement dans la substance grise. Récemment, il a été montré que les astrocytes participent à l'élimination de synapses entre autres durant le développement cérébral (Chung *et al.*, 2013) mais aussi à la neurotransmission (Henneberger *et al.*, 2010).

Les deuxièmes cellules de la macroglie du système nerveux central sont les oligodendrocytes. Ces cellules forment la gaine de myéline entourant les axones du système nerveux central, assurant une vitesse de conduction élevée. Chaque couche de myéline est connectée au soma de l'oligodendrocyte par un seul prolongement cellulaire, un oligodendrocyte pouvant avoir jusqu'à 50 prolongements. C'est la myéline qui est responsable de la coloration blanchâtre sur les coupes de cerveau, amenant la distinction entre substance grise et substance blanche. La SG, regroupe alors les corps cellulaires et les arbres dendritiques non myélinisés alors que la SB, rassemble les axones myélinisés issus des corps cellulaires. Néanmoins on retrouve des oligodendrocytes à la fois dans la substance blanche, accompagnant les axones (oligodendrocyte interfasciculaire), et dans la

substance grise (oligodendrocyte satellite) où ils régulent le milieu extracellulaire (Baumann and Pham-Dinh, 2001).

b- La microglie

Le terme de microglie peut désigner deux populations cellulaires distinctes phénotypiquement, des cellules périvasculaires phénotypiquement proches des macrophages du reste de l'organisme et les cellules microgliales présentent dans le parenchyme cérébral (Ford *et al.*, 1995). Le terme microglie désigne cette deuxième population dans cette thèse.

Ce sont des cellules apparentées aux macrophages, résidentes du système nerveux central et qui en sont la principale forme de défense immunologique active. Quiescentes, elles présentent un corps cellulaire réduit duquel partent de nombreux, fins et longs prolongements servant à sonder le milieu extracellulaire afin d'y détecter une menace (cellule, toxine, cytokine, etc.) menant, ou non, à son activation. Une cellule microgliale activée présente, par opposition, un corps cellulaire enflé parcouru de prolongements fins et épais dépendant de son activité (phagocytose, cytotoxicité, présentation antigénique, etc.).

c- Les épendymocytes

Ce sont des cellules gliales de forme cubique bordant l'épendyme et les ventricules cérébraux, comme le font les cellules endothéliales pour le système vasculaire. Comme ces dernières, elles sont polarisées mais diffèrent par la présence de cils mobiles au pôle apical et l'absence de lame basale. Elles ne forment donc pas, au terme *stricto sensu*, un épithélium mais un pseudo-épithélium. Mais aussi elles ne constituent pas une barrière imperméable et sont capables de réguler cette perméabilité. Le rôle des cils est de générer un flux de liquide céphalo-rachidien le long du canal de Sylvius (le flux épendymaire).

C. Organisation du cortex

Le cortex cérébral se compose à parts égales de neurones pyramidaux et de neurones non-pyramidaux. Les premiers sont responsables des efférences corticales (vers les structures sous-corticales), intracorticales (vers le cortex ipsilatéral) et callosales (vers le cortex contralatéral *via* le corps calleux). Dans les neurones non-pyramidaux, les plus abondantes sont les cellules granulaires, les principaux interneurons du cortex dont les

axones ne quittent pas le cortex. On retrouve aussi les cellules de Martinotti, les cellules fusiformes ou les cellules de Cajal-Retzius (ou cellules horizontales).

Le cortex est donc un enchevêtrement de neurones avec leurs arborisations, de cellules gliales ainsi que de capillaires sanguins dont les répartitions ne sont pas homogènes. Ainsi, la distribution de ces éléments a permis d'établir des cartes des différents territoires corticaux selon des critères cytoarchitectoniques (voir Figure 6), myéloarchitectoniques angioarchitectoniques et pigmentoarchitectoniques basés sur les distributions cellulaires, des fibres myélinisées, des vaisseaux sanguins ou de la densité de lipofushine des neurones respectivement.

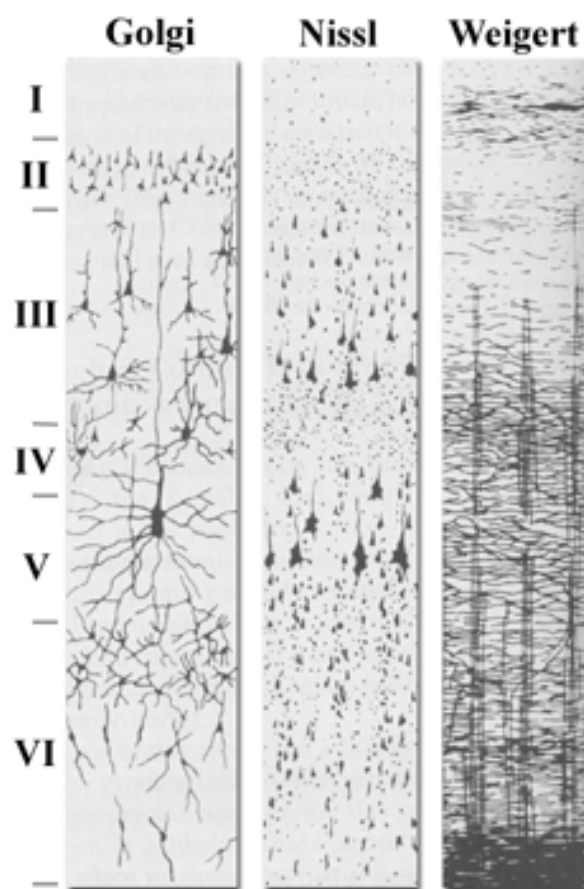


Figure 6 : Les six couches cellulaires différenciées du cortex selon trois types de coloration (Golgi, Nissl et Weigert).

Une approche purement morphologique (distribution, taille et densité cellulaire) distingue 6 couches principales dans le cortex :

- Couche I (moléculaire ou plexiforme) : principalement composée de l'arborisation dendritique apicale et d'axones horizontaux, contient peu de neurones.

- Couche II (granulaire externe) : principalement composée de cellules étoilées avec quelques neurones pyramidaux.
- Couche III (pyramidale externe) : contient des neurones pyramidaux de moyenne et petite taille ainsi que des cellules non-pyramidales avec des axones intracorticaux ascendants ou descendants.
- Couche IV (granulaire) : formée de différents types de cellules étoilées et de neurones pyramidaux, peut-être divisée en trois sous-couches (IVa-c).
- Couche V (pyramidale interne) : formée de neurones pyramidaux de grande taille et d'interneurones. Les cellules de Betz (les plus grands neurones pyramidaux) se trouvent dans la couche V du cortex moteur précentral.
- Couche VI (multiforme) : formée de cellules pyramidales polymorphes.

La carte de cytoarchitectonie la plus répandue pour l'homme est celle réalisée par Broadman constituée de 47 aires (voir Figure 7).

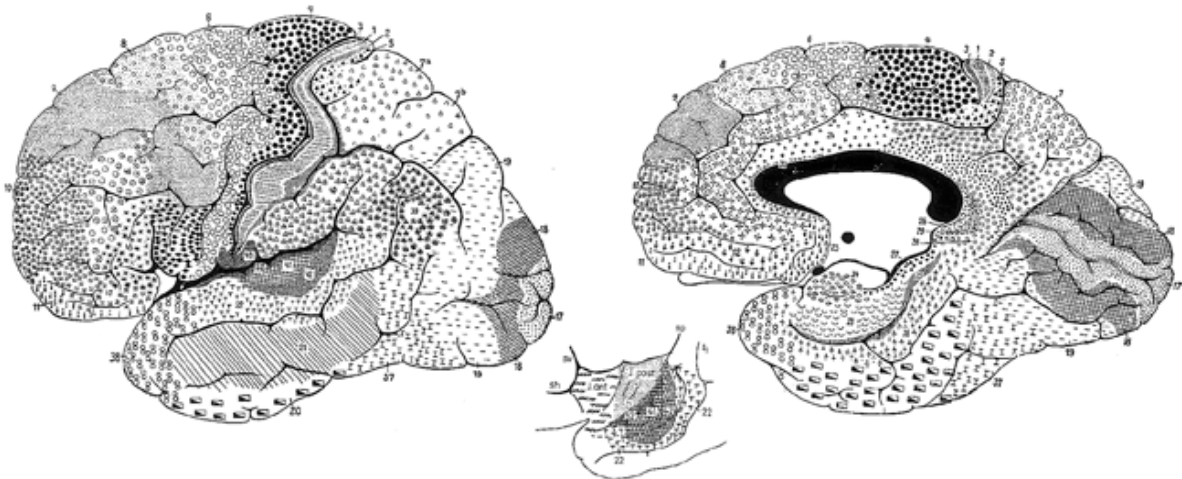


Figure 7 : Carte cytoarchitectonique de Brodmann (*Vergleichende lokalisationslehre der grosshirnrinde in ihren prinzipien dargestellt auf grund des zellenbaues*, 1909). A gauche, la face externe, à droite, la face interne, et au centre, la vallée sylvienne où se trouvent notamment enfouies les aires auditives primaires.

Cette carte est l'une des premières tentatives de parcellisation du cerveau humain et représente conséquemment l'un des premiers modèles des relations entre structures et fonctions cérébrales. Plus récemment, l'équipe de Karles Zilles à Düsseldorf a mis au point des méthodes numériques qui ont permis de réaliser des cartes probabilistes de la cytoarchitectonie du cerveau humain (Schleicher *et al.*, 1999). En résumé, des coupes histologiques de 20µm, préparées en coloration de Nissl, sont numérisées puis segmentées avec l'obtention des corps cellulaires en blanc sur un fond noir. Chaque région corticale est alors placée sous une grille de 25µm² dans laquelle est comptée la fraction de pixel

blanc, donnant alors le GLI (*Gray Level Index*) caractérisé comme un indice de densité cellulaire. Le profil de densité laminaire est alors établi orthogonalement à la surface corticale, contenant un vecteur de 10 informations calculées (moyenne, déviation standard, etc.). Un critère quantitatif évalue subséquemment l'homogénéité entre deux profils adjacents, un test statistique (T^2 de Hotelling) évaluant la différence. L'avantage de cette méthode est qu'elle est non-supervisée et reproductible ; elle représente une réelle avancée dans la cartographie corticale cytoarchitectonique.

D. La vascularisation

La vascularisation du système nerveux central repose sur 4 artères principales, les deux artères vertébrales (qui fusionnent pour donner le tronc basilaire) vascularisant la partie postérieure du cerveau et les deux artères carotides internes vascularisant la partie antérieure du cerveau. Ces deux systèmes sont anastomosés de manière importante afin d'assurer une vascularisation continue grâce au polygone de Willis (voir Figure 8).

Le polygone de Willis est formé par le tronc basilaire, qui forme une anastomose en se séparant pour donner les artères collatérales postérieures et rejoindre les artères carotides internes, qui elles-mêmes s'anastomosent entre elles par l'artère communicante antérieure.

Chaque hémisphère cérébral est vascularisé par trois artères issues du polygone de Willis (voir figure 9). Les artères cérébrales antérieures débutent entre les tracts olfactifs sur l'artère communicante antérieure, elles irriguent le cortex cérébral antérieur et médian interne. Les artères cérébrales moyennes sont dans le prolongement des artères carotides internes, elles irriguent le cortex cérébral externe antérieur et moyen. Enfin les artères cérébrales postérieures sont issues du tronc basilaire et irriguent le cortex cérébral postérieur et inférieur.

La vascularisation des noyaux gris centraux est assurée par des artères perforantes issues des artères cérébrales moyennes (artères perforantes lenticulo-striées) et postérieures (artères perforantes thalamiques). Le tronc cérébral et le cervelet sont vascularisés par des collatérales du tronc basilaire. On peut aussi noter la présence d'anastomoses, peu efficaces relativement au polygone de Willis, entre les artères cérébrales antérieure et moyenne et entre les artères cérébrales moyenne et postérieure.

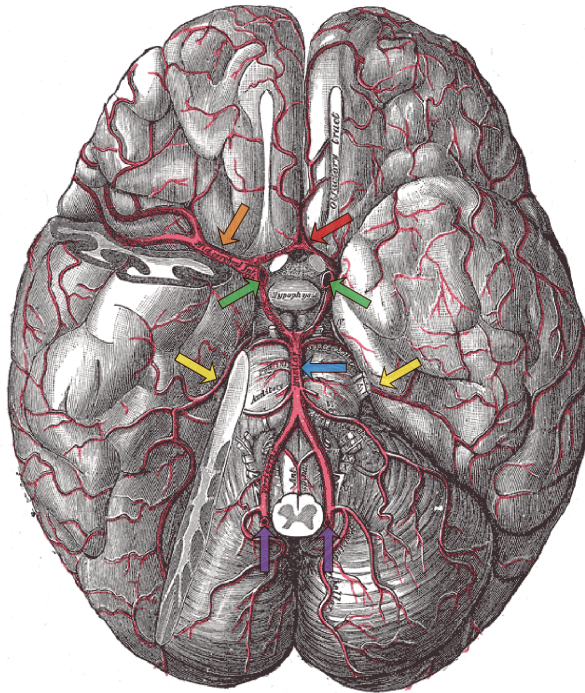


Figure 8: Vue inférieure de la vascularisation cérébrale et du polygone de Willis, formé par l'anastomose des artères vertébrales (flèches violettes) formant le tronc basilaire (flèche bleue) avec les artères carotides internes (flèches vertes), et d'où sont issues les artères cérébrales antérieures (flèche rouge), moyennes (flèche orange) et postérieures (flèches jaunes). Une partie du pôle temporal et du cervelet ont été omis de l'hémisphère droit pour la visualisation. Dessin de Uwe Gille, 20^{ème} édition américaine du « Gray's Anatomy of the Human Body », 1918.



Figure 9: Vue frontale de la vascularisation cérébrale et des territoires corticaux vascularisés par les artères cérébrales antérieure (en jaune), moyenne (en vert) et postérieure (en rouge). La vascularisation du diencéphale est principalement assurée par l'artère cérébrale postérieure et celle des noyaux gris centraux par l'artère cérébrale moyenne. Image sans référence obtenue sur <http://www.medecine.unige.ch/>.

2. PHÉNOMÈNES MOLÉCULAIRES ET CELLULAIRES CAUSES DU VIEILLISSEMENT

A. Phénomènes moléculaires

Le vieillissement cérébral met en jeu un grand nombre de phénomènes interdépendants (voir Figure 10), rendant difficile l'établissement de liens de causalité entre ces différents acteurs.

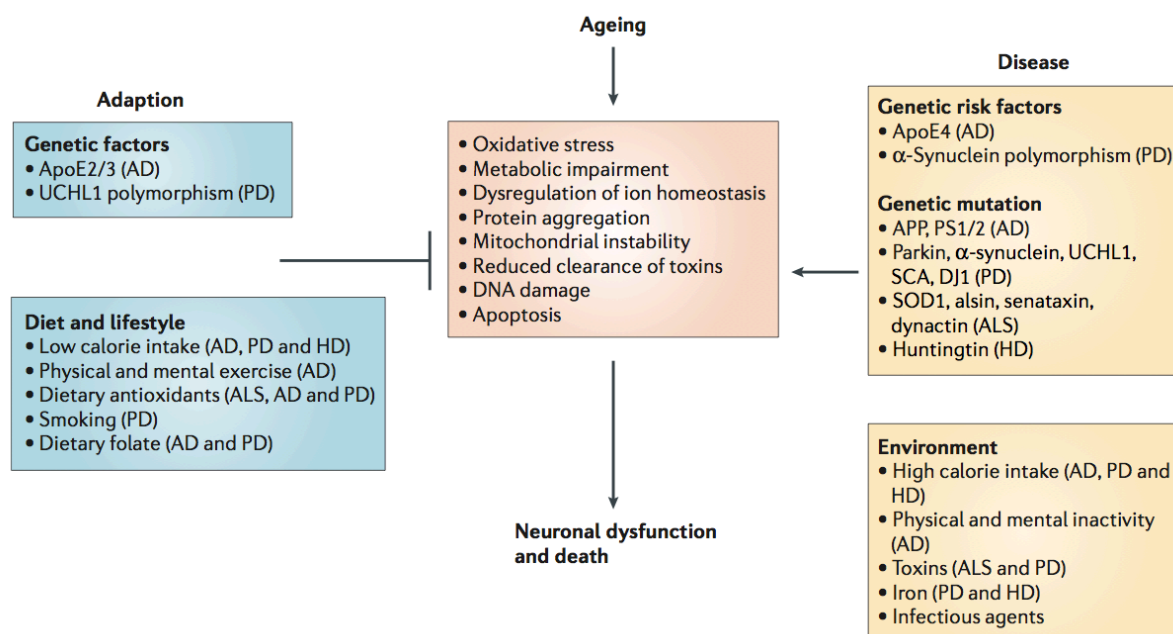


Figure 10: Le système nerveux central peut s'adapter, ou succomber, au vieillissement. Durant le vieillissement et les maladies neurodégénératives, la mort neuronale peut-être déclenchée par des mutations génétiques spécifiques ou des facteurs environnementaux. Ces facteurs favorisent les altérations cellulaires avec l'augmentation de la production de radicaux libres, en perturbant les homéostasies énergétique et calcique et en induisant l'activation des cascades apoptotiques. Ces facteurs coopèrent avec l'âge et l'augmentation associée du stress oxydatif, des compromis métaboliques, de l'instabilité de l'ADN et de la dérégulation de l'homéostasie ionique qui diminuent l'intégrité cellulaire. Les changements associés aux cellules gliales participent aussi au processus inflammatoires et aux altérations de la substance blanche dans les maladies neurodégénératives. AD : maladie d'Alzheimer, ALS : sclérose amyotrophique latérale, ApoE2/3 : isoformes 2 et 3 de l'apolipoprotéine, APP : protéine précurseur de l'amyloïde, HD : maladie de Huntington, PD : maladie de Parkinson, PS1/2 : présénilines 1 et 2, SCA : ataxie spinocérébelleuse, UCHL1 : ubiquitine carboxy-terminal hydrolase 1. Extrait de Mattson et Magnus 2006.

Plusieurs revues récentes (Esiri, 2007; Wang and Michaelis, 2010) ont indiqué que le vieillissement cérébral était associé à : 1) une augmentation du stress oxydatif, 2) une dérégulation du métabolisme cellulaire et de l'homéostasie ionique, 3) la formation d'agrégats protéiques, 4) l'accumulation de protéines mal repliées, dénaturées ou obsolètes 5) ainsi que de toxines et de dégâts sur l'ADN, 6) une instabilité mitochondriale,

etc. menant à terme à une disruption de la fonction neuronale pouvant aller jusqu'à l'apoptose.

Ces mécanismes sont similaires dans tous les types cellulaires composant le corps humain, mais plusieurs facteurs font que le cerveau est plus sensible à ces situations que le reste des organes. La première raison est la forte consommation énergétique (glucose + oxygène) induisant un stress oxydatif plus important que dans les autres systèmes (et qui est variable selon la région cérébrale considérée, voir CH1.III.3). Cette disproportion de consommation énergétique est due d'une part à la taille conséquente de certaines catégories de neurones nécessitant la maintenance d'une membrane conséquente associée à un transport moléculaire très important (particulièrement les transports antérogrades et rétrogrades au niveau de l'axone) mais aussi à l'activité électrique requérant le maintien des gradients ioniques par des processus actifs (consommation d'ATP) (Esiri, 2007). La seconde raison est que, contrairement à la plupart des autres cellules de l'organisme, les neurones sont extrêmement peu renouvelés, permettant l'accumulation au cours de la vie des dégâts inhérents à la forte consommation énergétique de ces cellules.

En effet, il a été montré durant le vieillissement que les expressions géniques étaient modifiées. Globalement cela se fait dans le sens d'une augmentation de l'expression de gènes liés aux protéines chaperonnes, à la défense anti-oxydante, à l'homéostasie des ions métalliques, et à la réponse inflammatoire avec une diminution de l'expression de gènes liés à la plasticité, au transport vésiculaire, à la fonction mitochondriale ainsi qu'à l'homéostasie calcique (Lu *et al.*, 2004). Les auteurs de l'étude ont montré que les gènes dont l'expression avait diminuée présentaient une accumulation de lésions oxydatives dans leurs séquences promotrices.

La restriction calorique se montre particulièrement efficace dans la réduction des changements liés à l'âge décrits ci-dessus (Fusco and Pani, 2013). Il est maintenant globalement accepté qu'une restriction calorique de 20 à 40% induit une augmentation de l'espérance de vie associée à une augmentation de l'expression protéique liée à la plasticité synaptique avec une diminution des atteintes cellulaires et une diminution du stress oxydatif, ainsi qu'une augmentation de la synthèse mitochondriale et des protéines chaperonnes. Si les mécanismes moléculaires sous-jacents ne sont pas identifiés, la modulation du stress oxydatif semble en être l'élément central (Perluigi *et al.*, 2014).

L'accumulation de dégâts au cours de la vie, avec un système de réparation qui s'en trouve perturbé et de moins en moins capable d'y faire face, que ce soit au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides des neurones, contribue à leur perte de fonction. Mais les neurones ne sont pas les seuls constituants cérébraux touchés par le vieillissement cérébral.

B. Autres facteurs

a- L'espace extracellulaire

L'espace extracellulaire subit aussi des modifications durant le vieillissement. La communication par diffusion de molécules dans cet espace extracellulaire est impliquée entre autres dans la vigilance, le sommeil, la douleur chronique, la sensation de faim, la dépression, la potentialisation et dépression synaptique à long terme et donc la mémoire (Sykova E, p19-26 in Hof and Mobbs, 2009). L'arrangement de la matrice extracellulaire, isolant certaines synapses et en laissant d'autres « nues » est déterminant pour la diffusion de ces molécules. Cette diffusion dépend aussi de l'absorption de la molécule par les cellules environnantes. Or, il a été montré que la fraction volumique de l'espace extracellulaire est réduite dans le cortex, le corps calleux et l'hippocampe de rats âgés, la diminution étant plus marquée chez ceux présentant des déficits de mémorisation, par rapport à des rats jeunes (Sykova E, p19-26 in Hof and Mobbs, 2009). De plus, la diffusion est anisotrope dans l'hippocampe des rats jeunes, suivant l'axe formé par les corps cellulaires, alors qu'elle est isotrope chez les rats âgés. Il faut aussi noter que l'absorption des molécules diffusant dans l'espace extracellulaire par les cellules environnantes diminue aussi avec l'âge. Ces changements, associés à la diminution du nombre de récepteurs et de neurotransmetteurs (Scheibel AB, p5-9 in Hof and Mobbs, 2009), sont susceptibles de participer au déclin cognitif par la modification de la communication extra-synaptique cérébrale. De plus, la réduction du volume de l'espace extracellulaire limite la mobilité moléculaire et cellulaire (Sykova E, p19-26 in Hof and Mobbs, 2009).

b- La microglie

Durant le vieillissement, le nombre de cellules microgliales augmente, ce qui est proposé comme étant un mécanisme de compensation de perte d'efficacité individuelle de ces cellules ou une prolifération incontrôlée. Cette prolifération se fait par divisions mitotiques principalement lors de l'activation de la microglie, qui revient à un nombre basal par apoptose par la suite. Durant le vieillissement, la répartition de la microglie dans

le parenchyme perd en homogénéité, soutenant l'hypothèse d'une perte de contrôle de la prolifération avec l'âge. La question de l'existence d'un progéniteur dans la moelle osseuse est toujours en débat. La prolifération par mitose implique qu'à chaque division, les débris cellulaires accumulés précédemment ne sont pas transmis équitablement entre les cellules filles (Stephens, 2005), amenant à une population de plus en plus hétérogène. Morphologiquement, si la taille moyenne des cellules microgliales ne varie pas avec l'âge, sa variabilité par contre augmente, ce qui s'explique peut-être par la remarque précédente. La motilité des prolongements et la migration des cellules microgliales diminuent avec l'âge, en partie liée à la diminution de l'espace extracellulaire avec l'âge mais aussi à une diminution de la transcription des gènes associés à la motilité et à la migration (Mosher and Wyss-Coray, 2014).

Durant le vieillissement, le nombre de récepteurs aux cytokines dans la microglie, la concentration en cytokines (pro- et anti-inflammatoires) ainsi que le nombre de cellules microgliales activées, particulièrement de type phagocytaire, augmentent (Mrak and Griffin, 2005). Ceci, accompagné de la diminution avec l'âge de la fractalkine, CX3CR1 et de CD200 (Wynne *et al.*, 2010; Bachstetter *et al.*, 2011; Cox *et al.*, 2012), molécules limitant la neurotoxicité microgliale, est susceptible d'être à l'origine de l'activation chronique de la microglie durant le vieillissement. Mais cette origine n'est pas clairement identifiée et à la vue des interactions entre les mécanismes cellulaires pouvant mener à une réponse inflammatoire, les chemins sont multiples. De plus, il a été montré chez le rat (Campuzano *et al.*, 2009) que la réponse inflammatoire suivant l'induction d'une excitotoxicité (injection stéréotaxique de NMDA dans le striatum droit) était fortement altérée chez les rats âgés comparés aux rats jeunes, avec des inductions de cytokines absentes (IL-1) ou retardées de 6h (IL-6) à 5 jours (TNF- α).

Ajouté aux éléments de dysfonction cités avant, ceci permet de comprendre en partie quel rôle la microglie peut jouer durant le vieillissement qui est accompagné d'une activation microgliale et d'une inflammation chroniques pouvant mener à une neurotoxicité (Mosher and Wyss-Coray, 2014).

C. Conséquences cellulaires

a- Substance grise.

L'atrophie macroscopique observée durant le vieillissement cérébral a longtemps été attribuée à une diminution du nombre de cellules neuronales. Cette mésestimation des

comptages cellulaires est supposée provenir de la différence de contraction tissulaire induite durant la fixation du tissu cérébral. En effet il a été rapporté que le tissu cérébral du sujet jeune se contracte plus que le tissu du sujet âgé, conduisant à une densité cellulaire artificiellement plus importante chez le sujet jeune (Hinman and Abraham, 2007). Cela pourrait être mis en lien avec la réduction de l'espace extracellulaire avec l'âge dont le contenu moléculaire est baigné dans un liquide, éliminé à la fixation. Aujourd'hui, il est communément accepté que la perte neuronale liée à l'âge est soit indétectable soit très limitée (Pakkenberg and Gundersen, 1997; Hof and Morrison, 2004).

Aujourd'hui, la perte de densité synaptique et d'arborisation dendritique fait partie des principales causes suggérées de l'atrophie cérébrale observée avec l'âge. En effet, il a été montré une perte de la densité synaptique du cortex préfrontal chez le singe âgé (Peters *et al.*, 1998), particulièrement dans la couche I. Chez l'humain, une perte de 46% en nombre et densité était rapportée pour les aires 10 (cortex préfrontal) et 18 (cortex visuel secondaire)(Jacobs *et al.*, 1997). Ainsi les estimations de pertes sont nombreuses et le pourcentage perdu, qui varie selon l'étude mais aussi selon la région considérée, est estimé entre 25 et 50% (Peters *et al.*, 1998; Duan *et al.*, 2003; Kabaso *et al.*, 2009; Dumitriu *et al.*, 2010). De même, il apparaît que toutes les épines dendritiques ne sont pas affectées de façon équivalente, certains auteurs suggérant une atteinte préférentielle des épines fines (Dumitriu *et al.*, 2010). Ces épines fines sont supposées être le support de la plasticité dendritique chez le sujet adulte ou âgé, une hypothèse confortée par la corrélation entre la perte de densité et la capacité d'apprentissage du non-appariement différé (DNMS, *Delayed Non-Matching-to-Sample*). Cette corrélation est la plus forte observée entre une mesure morphologique et une capacité cognitive (coefficient de Pearson = 0.97 ; Morrison and Baxter, 2012).

La réparation axonale est toujours active durant le vieillissement, mais est différée et ralentie par rapport à la jeunesse (Pestronk *et al.*, 1980; Vaughan, 1992). Cela pourrait être lié à une réduction de la vitesse des transports antéro- et rétrogrades le long de l'axone avec l'âge (Komiya, 1980; McQuarrie *et al.*, 1989). Cette diminution des transports axonaux pourrait aussi jouer un rôle dans la diminution des synapses fines relevée plus haut, la mise en place nécessitant l'apport de protéines synthétisées dans le soma.

b- Substance blanche.

Les oligodendrocytes font parties des composants cellulaires de la substance blanche. En tant que cellules myélinisantes, leur métabolisme et leur surface cellulaire en

font des cellules particulièrement sensibles aux altérations cellulaires liées à l'âge. De plus, le métabolisme de la myéline comprend de nombreuses enzymes utilisant le fer stocké dans le cytoplasme, qui participe au stress oxydatif (McTigue and Tripathi, 2008). Il n'est pas alors étonnant de trouver, de même que pour la microglie et les astrocytes, un nombre d'oligodendrocytes activés avec une réponse pro-inflammatoire augmenté durant le vieillissement (Hinman and Abraham, 2007).

Les fibres myélinisées elles-mêmes subissent des altérations supposées liées à l'inflammation chronique associée au vieillissement. De nombreuses études ont permis de montrer une réduction du nombre de fibres ainsi qu'une réduction de la longueur totale de fibres allant jusqu'à 50% (Meier-Ruge *et al.*, 1992; Tang *et al.*, 1997; Marner *et al.*, 2003), avec l'hypothèse d'une vulnérabilité supérieure des fibres de diamètre faible (Tang *et al.*, 1997). La vulnérabilité des fibres de plus faible diamètre peut s'expliquer par deux facteurs. Le premier est que les oligodendrocytes myélinisent plusieurs axones, souvent de même diamètre ; plus le diamètre est petit plus l'oligodendrocyte myélinisera de fibres. (Bjartmar *et al.*, 1994). Conséquemment, l'altération d'un seul oligodendrocyte concerne plus de fines fibres que de grosses fibres. Le deuxième serait que les fibres collatérales, secondaires et associées à la modulation, seraient délaissées par le neurone efférent, préférant la maintenance de sa fibre principale soutenant sa fonction principale (Marner *et al.*, 2003). Cette réduction est associée à des altérations morphologiques (Figure 11).

Bien que les effets de ces variations morphologiques sur la fonction de l'axone ne soient pas élucidés, il a été montré que ces modifications corrèlent avec les déficits des fonctions cognitives associées dans le cortex visuel primaire (Peters *et al.*, 2000) et le cortex préfrontal chez le singe rhésus (Peters and Sethares, 2002). Il a été suggéré que des protéines associées au nœud de Ranvier (par exemple : canaux ioniques du potassium) pouvaient avoir leur localisation changée (Hinman and Abraham, 2007), ce qui pourrait moduler la transmission de l'influx nerveux.

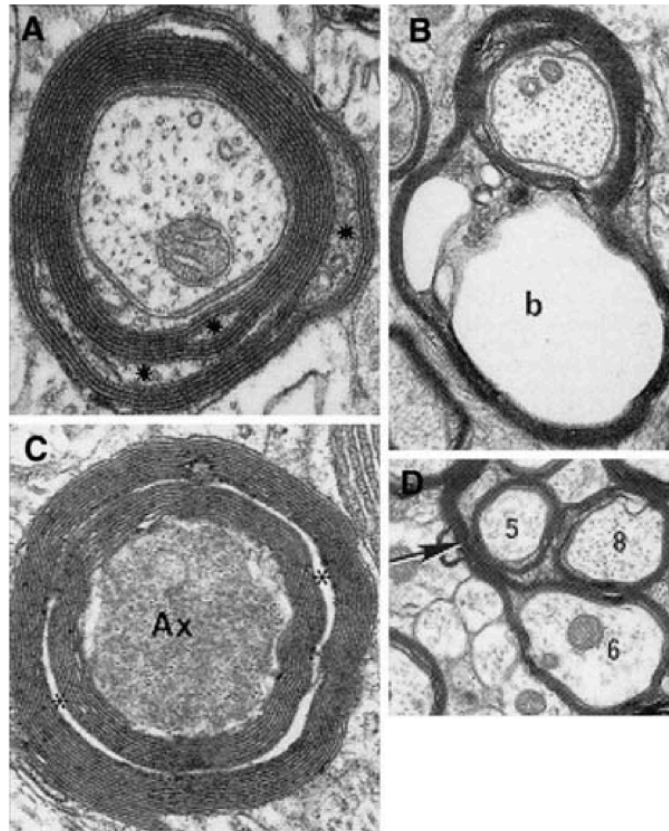


Figure 11 : Changement liés à l'âge dans la structure de la myéline. A : inclusion de cytoplasme dense contenant des vésicule et vacuole. B : renflement liquide inclus dans les couches de myéline. C : Double couche de myéline. D : Couches de myélines redondantes. Extrait de Hinman et Abraham 2007.

c- Conséquences fonctionnelles

Les altérations décrites pour les substances grise et blanche ont des conséquences sur le fonctionnement des réseaux de neurones, base du fonctionnement cognitif. Cela ne concernant pas la thèse mais étant juste cité pour information, cette partie est succincte. Une publication (Gong *et al.*, 2009) a montré en utilisant la théorie des graphs que les réseaux subissent des altérations durant le vieillissement. Le coût d'un réseau représente sa connectivité globale, plus elle est grande plus le coût est faible. Le coût des réseaux augmente avec l'âge. Ils ont aussi montré un changement associé à l'âge dans l'efficacité régionale des réseaux, certaines augmentant (dans les cortex frontal et temporal) et d'autres diminuant (dans les cortex pariétal et occipital), supposé supporter l'idée de l'adaptation des réseaux durant l'âge pour palier les altérations de certains d'entre eux. Ce phénomène de décalage de l'activité corticale est appelé PASA (*Posterior-anterior shift in aging*, Davis *et al.*, 2008).

Plus classiquement, il a été montré que la vitesse de traitement, la mémoire de travail et la mémoire à long terme sont touchées avec l'âge (Park and Reuter-Lorenz, 2009). La première dépend surtout de l'intégrité des réseaux et de l'efficacité de la neurotransmission, alors que les deuxièmes dépendent aussi de la plasticité et donc du métabolisme cellulaire, tous décrits comme déclinant avec l'âge.

III. VIEILLISSEMENT MORPHOLOGIQUE MACROSCOPIQUE

1. RAPPELS SUR L'ARCHITECTURE MACROSCOPIQUE DU CERVEAU HUMAIN

Ce chapitre a pour objectif de rappeler les organisations relatives des deux tissus cérébraux, la substance grise et la substance blanche. La substance grise est localisée en grande majorité à l'extérieur de la structure cérébrale et forme le cortex cérébral. Cette surface externe est repliée donnant des sillons et des *gyri* qui offrent alors les repères anatomiques permettant les comparaisons inter-sujets. Les structures corticales prennent alors la dénomination du lobe où elles se situent ainsi que leur positions par rapport aux différents sillons. La substance grise est composée des corps cellulaires des neurones, de l'arborisation dendritique non-myélinisée, de cellules gliales (astrocytes protoplasmiques, oligodendrocytes satellites et microglie) mais aussi de fines fibres myélinisées.

Sous le manteau cortical se trouve la substance blanche ainsi que les ventricules. La substance blanche est en grande majorité composée des axones myélinisés mais aussi des oligodendrocytes interfasciculaires associés ainsi que d'astrocytes fibreux et de cellules microgliales.

Le signal observé en IRM dépend de chaque participant au volume considéré. Ainsi sur des images IRM proches d'une résolution millimétrique, une étude (Eickhoff *et al.*, 2005) a permis de mettre en évidence la relation entre l'intensité du signal IRM et l'architecture microscopique du cortex. Le profil du signal IRM (voir Figure 12) est hautement corrélé à la myéloarchitectonie dans les couches corticales les plus internes tandis qu'il dépend également de la cytoarchitectonie dans les couches corticales les plus externes.

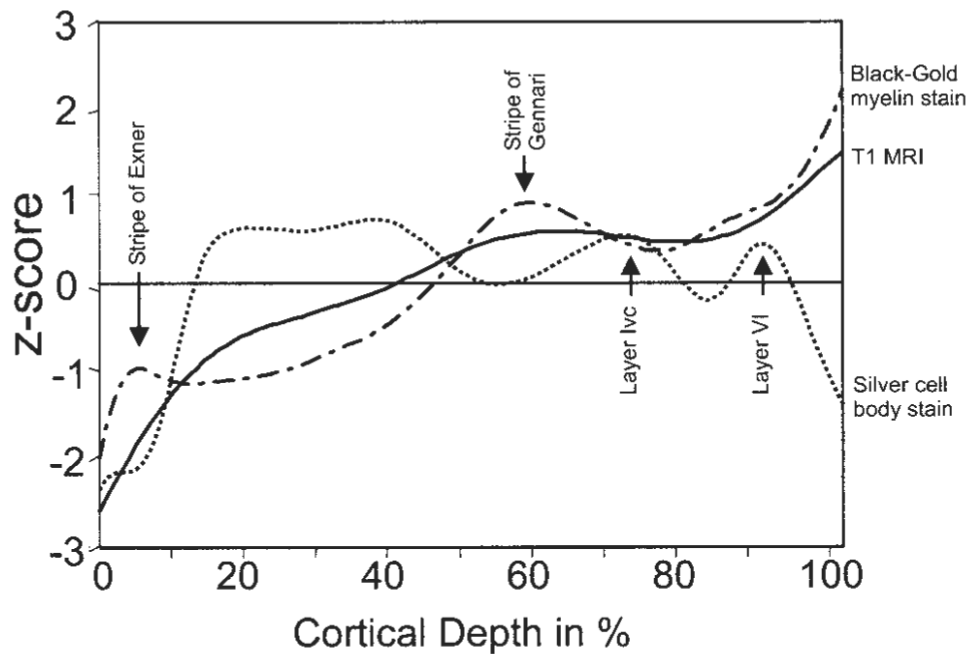


Figure 12 : Profils d'intensité mesurés le long du cortex visuel primaire sur des images IRM pondérées en T1 in vivo (ligne continue) ainsi que sur des coupes histologiques avec coloration de la myéline (ligne discontinue) et avec coloration des corps cellulaires (ligne pointillée). Les différents profils sont normalisés pour permettre leur comparaison (z-score). Les flèches indiquent l'emplacement des stries de fibres nerveuses composant la myeloarchitecture corticale. Extrait de Eickoff et al., 2005.

On retrouve aussi des structures de substance grise sous-corticales qui forment les noyaux gris centraux (ou ganglions de la base) et le diencephale.

A. Noyaux gris centraux

La plus grande partie de la SG non corticale située à l'intérieur des hémisphères cérébraux est représentée par les noyaux gris centraux bordant latéralement les ventricules. On peut distinguer deux grands groupes : les ganglions de la base et le thalamus (voir Figure 13). Les ganglions de la base rassemblent plusieurs noyaux situés, comme leur nom l'indique, à la base du cerveau, entre le télencéphale et le diencephale. Très fortement connectés au cortex, ils sont au cœur des échanges d'informations issues des régions corticales sensorielles, motrices et limbiques. Ils reçoivent ces informations par voies afférentes et se projettent, en retour, par voies efférentes sur le cortex, principalement vers le lobe frontal via le thalamus, ou vers les structures du tronc cérébral qui sont essentielles au contrôle des mouvements volontaires. Les ganglions de la base comportent : (1) le striatum composé du noyau caudé et du noyau lenticulaire (lui-même composé du putamen et du globus pallidus), (2) le claustrum, (3) le noyau accumbens, (4)

le noyau sous-thalamique et (4) la substance noire. Entre les noyaux caudé et lenticulaire, d'une part, et le thalamus, d'autre part, se trouve la capsule interne.

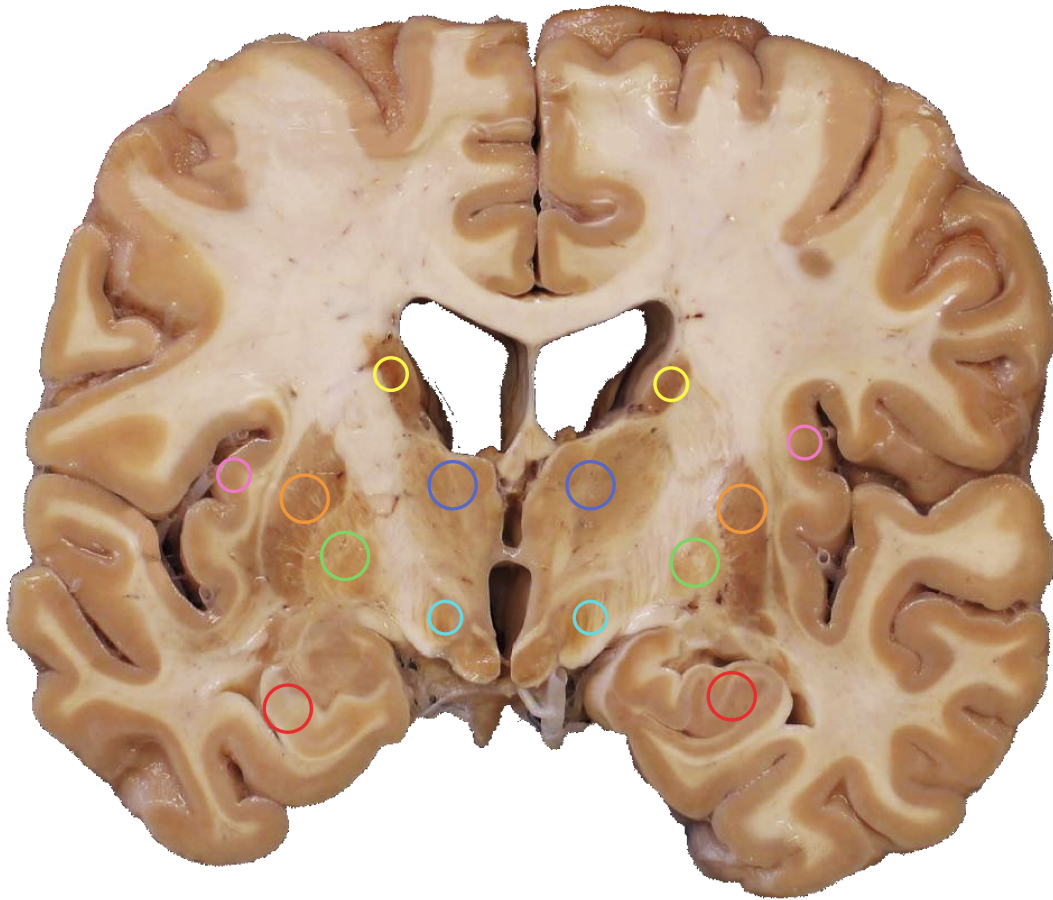


Figure 13 : coupe frontale de cerveau humain passant par le corps calleux et les ganglions de la base. Bleu foncé : thalamus, bleu cyan : hypothalamus, jaune : noyau caudé, rose : insula, orange : putamen, vert : globus pallidus, rouge : hippocampe. Image issue du site <http://www.anatomie-amsterdam.nl/> et adaptée.

B. Le diencephale

Le diencephale est composé du thalamus, de l'hypothalamus, de la glande pinéale et de l'épithalamus. Selon la considération (anatomique ou fonctionnelle) le noyau sous-thalamique est considéré comme faisant partie du diencephale ou des ganglions de la base (respectivement). Ces structures sont impliquées dans les cinq sens humains, la fonction motrice, le contrôle de la fonction endocrine et de l'homéostasie ainsi que dans la régulation du système nerveux autonome.

C. Liquide céphalo-rachidien

Le liquide céphalo-rachidien (LCR) remplit l'espace sous-arachnoïdien (LCR extra-cérébral) et les ventricules (LCR intra-cérébral). Dans le LCR intra-cérébral, on distingue les ventricules latéraux ainsi que les troisième et quatrième ventricules (voir Figure 14). Le LCR est produit par les plexus choroïdes situés dans les ventricules latéraux et le quatrième ventricule et, il est réabsorbé par les villosités arachnoïdiennes. L'espace sous-arachnoïdien et les ventricules communiquent par les trous de Luschka et le foramen de Magendi, ouvertures latérales et au niveau de la base du quatrième ventricule. Le LCR joue les rôles, premièrement de protection mécanique du cerveau contre les chocs par amortissement des mouvements, et deuxièmement de protection contre les infections, car il contient des médiateurs de l'immunité humorale et cellulaire.

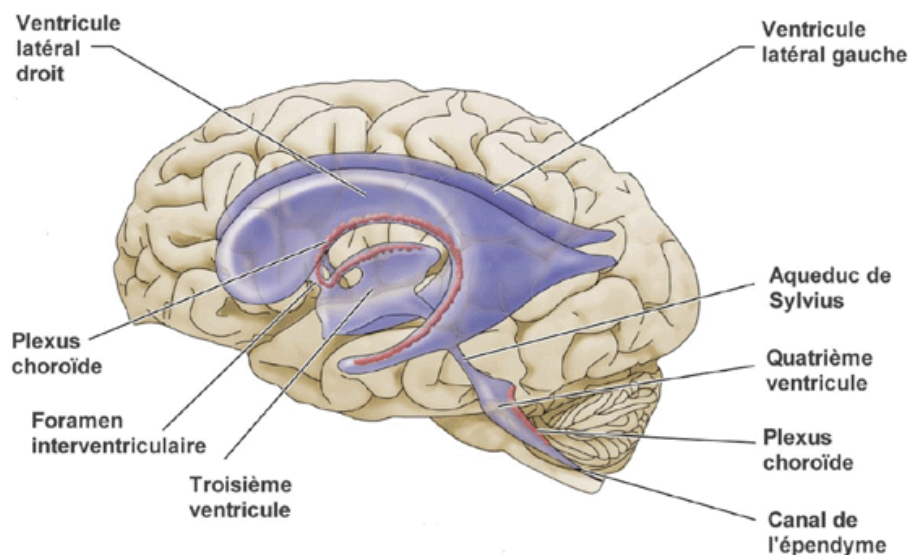


Figure 14 : Représentation en transparence du système ventriculaire cérébral. Image issue d'une présentation de Gilles Bourbonnais (Cégep de Sainte-Foy) « BIO 101-B42-SF Anatomie fonctionnelle du système ».

2. ÉVOLUTION DES VOLUMES TISSULAIRES CÉRÉBRAUX AU COURS DE LA VIE

A. Vue générale¹

Le cerveau humain subit d'importantes modifications structurales au cours de la vie dépendant de facteurs génétiques (Chen *et al.*, 2012) et environnementaux tels que le développement cognitif (Tamnes *et al.*, 2010b) et l'expérience (Maguire *et al.*, 2000; Draganski *et al.*, 2004). Ainsi, la surface totale du cortex est multipliée par 3 entre la naissance et l'âge adulte.

Au terme de la gestation, la neurogénèse et la migration neuronale sont presque terminées (Marsh *et al.*, 2008; Feliciano and Bordey, 2013). Cette phase de croissance cérébrale est physiologiquement caractérisée par la synaptogénèse, la gliogénèse, l'augmentation de l'arborisation dendritique, la myélinisation intracorticale (Hill *et al.*, 2010) ainsi que le développement des capillaires intracorticaux, la vascularisation du cortex hémisphérique commençant dès la 8^{ème} semaine de gestation (Marín-Padilla, 2012). Le volume total du cerveau va donc augmenter pendant l'enfance et le début de l'adolescence pour commencer à diminuer à partir de 13 ans (Hedman *et al.*, 2012). Même si la majorité des sillons et *gyri* présents à l'âge adulte sont déjà mis en place au terme de la grossesse (White *et al.*, 2010), la maturation continue au niveau temporal latéral et du lobe frontal et pariétal, régions associées aux fonctions cognitives de haut niveau (Hill *et al.*, 2010) et présentant une complexité cellulaire plus importante.

Il est important d'identifier où finissent le développement puis la maturation et où commence le vieillissement. En effet, ces deux mécanismes conduisent à l'amincissement du cortex mais via des processus biologiques différents. Bien que le sujet soit toujours débattu, le développement et la maturation du cortex reposeraient sur l'élimination sélective des synapses selon leur utilisation (pruning synaptique), la réduction du nombre de cellules gliales et la prolifération de la myéline au sein du neuropil (Tamnes, 2010a). Au niveau macroscopique, le vieillissement cérébral est aussi caractérisé par l'élargissement des sillons et du système ventriculaire. Certains auteurs ont montré que l'amincissement du cortex décélèrait à partir de la fin de la vingtaine/début quarantaine (Westlye *et al.*,

¹ Écrit en collaboration avec Sophie Maingault.

2010a; Fjell *et al.*, 2013). La modélisation de l'effet de l'âge sur une majorité de régions du cortex par une courbe exponentielle montre que le cortex est à 90% de son minimum autour de 30 ans d'où l'importance de la période de maturation (Tamnes *et al.*, 2010a). L'effet de l'âge est hétérogène et certaines régions sont plus préservées au cours du vieillissement, cela sera discuté par la suite (CH1.III.3).

B. Évolution des volumes au cours de la vie.

De nombreuses études ont été réalisées pour la caractérisation des évolutions volumétriques du cerveau entier, de la substance grise et de la substance blanche. Récemment, les auteurs d'une revue de la littérature (Hedman *et al.*, 2012) ont comparé les résultats de différentes études sur différentes tranches d'âge de la vie. Ici ne sont présentés que les résultats des études longitudinales par soucis de concision.

Comme nous pouvons le constater dans la Table 1, le volume du cerveau entier est en croissance jusqu'à l'âge de 13 ans environ. Selon les études considérées la période suivante diffère entre une période de croissance (Mueller *et al.*, 1998; Lieberman *et al.*, 2005; Whitworth *et al.*, 2005) ou d'atrophie modérée (DeLisi *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 2003), les auteurs de la méta-analyse suggérant une période de stabilité ou de légère croissance entre 25 et 35 ans. S'ensuit une atrophie continue jusqu'à la fin de vie du volume de cerveau entier, avec une tendance à l'accélération de la vitesse d'atrophie avec l'âge (voir Table 1).

Les deux tissus cérébraux, la SG et la SB, montrent des dynamiques différentes. En effet la SG croît uniquement durant l'enfance (avant 13 ans), à l'exception de la période de 25-35 où elle pourrait être en légère augmentation ou stabilité. Mis à part cette période, le volume de SG décroît le long de la vie avec une accélération de la perte avec l'âge. Le volume de substance blanche corticale présente une trajectoire différente avec une augmentation jusqu'à environ 45 ans (Walhovd *et al.*, 2005; Westlye *et al.*, 2010b), un plateau puis une diminution importante lors du vieillissement représentant une démyélinisation des fibres neuronales.

Étude	N	Âge	Délai	%/an CE	%/an SG	%/an SB	
Ment <i>et al.</i> , 2009	20	8.6 (0.7)	3.5	+0.98	-2.73	+7.51	
Autti <i>et al.</i> , 2008	12	12.6 (0.9)	6.5 (0.5)	-0.20 (0.5)	-0.30 (0.6)	+0.80	
Reig <i>et al.</i> , 2009	34	15.8 (1.4)	2.0	-0.17	-0.74	+1.03	
Lieberman <i>et al.</i> , 2005	44	25.5 (4.1)	1.0	+0.60	+0.59	+0.62	
van Haren <i>et al.</i> , 2008	113	35.3 (12.3)	4.9 (0.3)	-0.15	-0.15	+0.30	
Liu <i>et al.</i> , 2003	90						
	<35ans	44	25.5 (6.6)	3.6	-0.06	-0.11	+0.06
	35-54ans	37	44.5 (5.7)	3.5	-0.18	-0.02	-0.43
	>54ans	9	67.9 (6.4)	3.5	-0.38	-0.26	-0.57
Driscoll <i>et al.</i> , 2009	120	70.6 (6.1)	6.0 (2.0)	-0.77	-0.50	-1.07	
Thompson <i>et al.</i> , 2003	14	71.4 (0.9)	2.6 (0.3)	-0.88	-0.91	-2.72	
Cardenas <i>et al.</i> , 2003	16	76.0 (5.0)	2.6 (1.0)	-0.20	-0.90	N.E.	

Table 1: Vue générale des études longitudinales sur l'évolution des volumes cérébraux globaux au cours de la vie. Les valeurs sont les moyennes (déviations standard). N : nombre de participants, %/an : atrophie relative annualisée, CE : cerveau entier, SG : substance grise, SB : substance blanche, N.E. : non étudié. extrait de Hedman *et al.*, 2012

C. Au cours du vieillissement

a- Cerveau entier

La perte de tissu cérébral avec l'âge a été extensivement étudiée dans de nombreuses études de neuroimagerie et correspond à la perte de SG et de SB.

Nous pouvons voir (Table 2) que les estimations issues des études transversales sont plus faibles que celles issues des études longitudinales. L'étude transversale de Resnick *et al.* (2000) comporte 116 sujets dont 92 forment partie de l'échantillon utilisé dans leur étude longitudinale (Resnick *et al.*, 2003). À la vue des estimations de pertes annuelles entre ces deux études, il est tentant de conclure que les analyses longitudinales indiquent des valeurs plus grandes que les analyses transversales à sujets équivalents. La même remarque peut être faite concernant l'étude de Sigurdsson *et al.* (2012). Or les données estimées au travers de ces deux analyses ne sont pas réellement comparables, les estimations transversales dérivant de l'association linéaire entre les volumes cérébraux et les âges de tous les sujets à un temps donné alors que les estimations longitudinales dérivent de l'association linéaire entre les vitesses d'atrophie de chaque sujet et leur âge.

Études transversales	Âge		%/an
Sigurdsson <i>et al.</i> , 2012	66-96		-0.41
Hoogendam <i>et al.</i> , 2012	60.1 ± 8.5		-0.35
Smith <i>et al.</i> , 2007	58-95		-0.2
Lemaître <i>et al.</i> , 2005b	63-75		-0.26
Resnick <i>et al.</i> , 2000	59-85		-0.33
Étude longitudinales	Âge	Délai	%/an
Sigurdsson <i>et al.</i> , 2012	66-96	2.5	-0.62
Debette <i>et al.</i> , 2011	54 ± 9	6.3	-0.58
Enzinger <i>et al.</i> , 2005	65-75	6	-0.55
Fotenos <i>et al.</i> , 2005	65-95	1.8	-0.45
Resnick <i>et al.</i> , 2003	59-85	4	-0.45
Wang and Doddrell, 2002	72.3 ± 0.9	0.9	-0.37
Tang <i>et al.</i> , 2001	74-87	4.4	-2.1

Table 2: Estimations des pentes de régressions linéaires (exprimées en %/an) des volumes de cerveau entier (CE) en fonction de l'âge (en années) relativement au volume total intracranien (VTI). Le délai entre les deux IRM est exprimé en années. Les données dans certaines études étaient indiquées en cm³/an puis ramené pour la comparaison en %/an en utilisant le VTI moyen indiqué dans les études.

Deux études longitudinales présentées en Table 2 se distinguent: celle de Tang *et al.*, 2001 et celle de Wang and Doddrell (2002). La première rapporte un taux d'atrophie clairement décalé par rapport aux autres études présentées, ce qui s'explique par le fait que les auteurs de l'étude ont conservé les sujets ayant développé une démence au cours des 4.4 années de suivi, ces sujets présentant classiquement un taux d'atrophie plus important que les sujets sains (Thompson *et al.*, 2003). La seconde présente un taux légèrement inférieur aux autres études, surement lié à la durée du suivi, inférieur à un an ce qui limite les possibilités de détection de changement des volumes cérébraux, d'où l'importance d'un suivi adapté au sujet d'étude.

Globalement les études longitudinales indiquent un taux d'atrophie au alentour de 0.5% par an. Sachant que les sujets de cette tranche d'âge ont un volume cérébral d'environ 1000cm³, cela indique une atrophie d'environ 5cm³ par an. Parmi ces études, les résultats de celle d'Enzinger *et al.* (2005) indiquent que l'atrophie chez les sujets âgés de 65 à 75 ans (-0.55%) est plus élevée que celle des sujets âgés de 50 à 64 ans qui est de -0.28%. Ceci suggère que l'atrophie n'est pas linéaire de 50 à 75 ans, indiquant

l'importance des tranches d'âges restreintes pour les modèles linéaires ou inversement l'intérêt des modèles non-linéaires lors de l'étude d'une population hétérogène pour l'âge.

Les différences dans les taux d'atrophie observés peuvent s'expliquer par les différentes tranches d'âge des cohortes, les méthodes de traitement des images IRM mais également par l'approche utilisée (transversale ou longitudinale) comme le montre les études de Resnick *et al.* (2000 et 2003) et celle de Sigurdsson *et al.* (2012).

b- SG et de SB.

L'étude de l'atrophie du volume cérébral total peut être complétée par l'étude de la part due au volume de substance grise et au volume de substance blanche. En effet ces tissus présentent des caractéristiques (volume, contenu cellulaire et vasculaire) très différentes et présentent des différences quand au vieillissement neuro-anatomique. Ici encore les résultats rapportés par les différents auteurs sont divergents (Table 3).

Études transversales	Délai	Âge	Pertes de tissu (cm ³ /an)		
			SG	SB	LCR
Resnick <i>et al.</i> , 2000		59-85	-1.4	-1.9	nd
Lemaître <i>et al.</i> , 2005b		63-75	-2.2	-1.7	3.8
Smith <i>et al.</i> , 2007		58-95	-2.4	-0.2	2.5
Greenberg <i>et al.</i> , 2008		60-85	-1.3	-3.9	4.9
Étude longitudinales					
Resnick <i>et al.</i> , 2003	4	59-85	-2.4	-3.1	nd
Liu <i>et al.</i> , 2003	3.5	57-77	-1.9	-2.6	5.9
Sigurdsson <i>et al.</i> , 2012	2.5	69-96	-5.2	-1.8	7.6

Table 3: Estimations des pentes de régressions linéaires (exprimées en %/an) des volumes de cerveau entier (CE) en fonction de l'âge (en années) relativement au volume total intracranien (VTI). Le délai entre les deux IRM est exprimé en années. Les données dans certaines études étaient indiquées en %/an puis ramenés pour la comparaison en cm³/an en utilisant le VTI moyen indiqué dans les études.

Nous voyons que dans les études longitudinales, Liu *et al.* (2003) rapporte un taux d'atrophie de SB plus important que celui de SG, non significatif, à savoir une réduction de 1.9 et 2.6 cm³ par an respectivement. Resnick *et al.* (2003) rapporte la même tendance, à savoir une perte de SB plus importante, mais les deux taux ne sont significativement pas différents, à savoir de 2.4 et 3.1 cm³ par an pour la SG et la SB. Seuls Sigurdsson *et al.* (2012) indiquent une atrophie annuelle plus importante pour la SG que pour la SB.

Quand aux études transversales, la première (Resnick *et al.*, 2000) indique des taux d'atrophie de 1.4 cm³ par an pour la SG et de 1.9 cm³ par an pour la SB, une autre réalisée au sein du laboratoire (Lemaître *et al.*, 2005b) indique des taux de 2.2 et 1.7 cm³ par an respectivement pour la SG et la SB, la troisième (Smith *et al.*, 2007) quant à elle rapporte des taux de 2.4 cm³ par an pour la SG et de 0.2 cm³ par an pour la SB et finalement une autre (Greenberg *et al.*, 2008) indiquait des résultats de 1.34 cm³ par an pour la SG et de 3.87 cm³ par an pour la SB. Les résultats de l'analyse transversale de l'étude de Sigurdsson *et al.* (2012) indiquent les mêmes tendances que données précédemment, à savoir des estimations plus faibles en transversal qu'en longitudinal et une atrophie de SG plus importante que celle de SB. Nous pouvons remarquer les résultats très discordants entre ces différentes études, ne pouvant dégager une tendance que en enlevant l'étude de Greenberg *et al.* (2008), les résultats des études récentes restantes indiquant une atrophie plus importante de SG que de SB avec l'âge. Le taux d'atrophie de SG dans l'étude Sigurdsson *et al.* (2012), bien plus importants que celui des autres études longitudinales peut être dû en partie à la tranche d'âge utilisée, 76.1 ans en moyenne contre 67.1 dans l'étude de Liu *et al.* (2003) et 70.4 dans l'étude de Resnick *et al.* (2003).

Les études longitudinales permettant d'utiliser un sujet comme son propre contrôle et inférant l'effet de l'âge directement à partir des vitesses d'atrophie individuelles, les estimations rapportées dans ces études sont sans doute à considérer comme plus proches de la réalité. Le volume total intracrânien (VTI) ne variant pas avec l'âge et correspondant à la somme des trois tissus cérébraux (SG, SB et LCR), les pertes de SG et de SB devraient être compensées par une augmentation de LCR équivalente. Le volume de LCR n'est pas systématiquement étudié car difficile à dériver des images d'IRM pondérées en T1, utilisées parfois exclusivement par les études de neuro-imagerie de ce genre. Conséquemment certains auteurs omettent cette donnée quand d'autres l'ont incluse avec plus ou moins de réussite. On peut voir que les pertes de SG et de SB sont compensées par l'estimation de LCR quasi exactement dans les études de Lemaître *et al.* (2005) et Smith *et al.* (2007), un peu moins chez Greenberg *et al.* (2008) et Sigurdsson *et al.* (2012). Par contre dans l'étude de Liu *et al.* (2003), les pertes cumulées de SG et de SB (4.5 cm³ par an) ne correspondent pas à l'augmentation estimée de LCR (5.9 cm³ par an), reflétant la difficulté d'estimation du volume de LCR à partir d'images pondérées uniquement en T1.

Le débat sur les différences d'atrophie de SG et de SB continue à l'heure d'écriture de cette thèse. Comme il sera développé plus tard, les évolutions de ces deux volumes dépendent aussi de nombreux facteurs volontairement omis pour le moment.

3. RÉGIONS CIBLES DU VIEILLISSEMENT CÉRÉBRAL

Le cerveau humain comprend approximativement 86 milliard de cellules neuronales et 85 milliard de cellules non-neuronales (Azevedo *et al.*, 2009). Toutes les cellules neuronales ne sont pas identiques et présentent des variations (morphologiques, expression génique, etc.) qui sont les bases des variétés de fonctions réalisées par ces cellules ; elles posent aussi les bases de différences dans les vulnérabilités individuelles des différents neurones aux atteintes que leur porte l'âge, la maladie, le stress, l'inflammation chronique, etc. La conséquence est que l'atrophie observée sur les mesures de SG et de SB n'est pas homogène.

A. Le cortex

Les résultats d'une étude récente (Storsve *et al.*, 2014) a présenté les résultats obtenus via une approche de *Surface Based Morphometry* chez 207 sujets âgés de 20 à 84 ans à l'entrée, suivis à deux reprises à 3.6 ans d'écart. Ils ont étudié les variations d'épaisseur, d'aire et de leur produit, le volume, des 34 régions du cortex présentées en Table 4.

Région corticale		Pourcentage de variation annuel					
		Volume relatif		Aire relative		Épaisseur relative	
		Moyenne	DS	Moyenne	DS	Moyenne	DS
Cingulaire							
	Antérieur caudal	-0.59	(0.97)	-0.24	(0.54)	-0.39	(0.93)
	Antérieur rostral	-0.31	(1.04)	-0.09	(0.61)	-0.32	(0.86)
	Postérieur	-0.71	(0.86)	-0.37	(0.47)	-0.41	(0.72)
	Rétrosplénial	-0.53	(0.81)	-0.17	(0.64)	-0.35	(0.68)
Frontal							
	Supérieur	-0.60	(0.82)	-0.22	(0.36)	-0.40	(0.76)
	Moyen caudal	-0.71	(1.09)	-0.30	(0.38)	-0.46	(1.00)
	Moyen rostral	-0.49	(1.00)	-0.27	(0.39)	-0.29	(0.89)
	<i>pOpercularis</i>	-0.51	(0.93)	-0.52	(0.75)	-0.58	(1.62)
	<i>pTriangularis</i>	-0.38	(1.06)	-0.21	(0.44)	-0.22	(0.97)
	<i>pOrbitalis</i>	-0.55	(0.93)	-0.34	(0.66)	-0.23	(0.85)
	Orbitofrontal latéral	-0.51	(0.79)	-0.21	(0.41)	-0.32	(0.80)
	Orbitofrontal médial	-0.63	(1.04)	-0.18	(0.64)	-0.48	(0.89)
	Pôle frontal	-0.30	(1.10)	-0.12	(1.37)	-0.20	(0.98)
Pariétal							
	Insula	-0.32	(0.60)	-0.15	(0.41)	-0.26	(0.48)
	Precentral	-0.49	(1.12)	-0.07	(0.41)	-0.41	(1.14)
	Postcentral	-0.47	(1.09)	-0.07	(0.35)	-0.37	(1.09)
	Paracentral	-0.52	(1.12)	-0.12	(0.41)	-0.36	(1.12)
	Supérieur	-0.61	(1.19)	-0.17	(0.29)	-0.40	(1.10)
	Inférieur	-0.70	(0.95)	-0.27	(0.29)	-0.45	(0.86)
	Supramarginal	-0.57	(0.93)	-0.21	(0.28)	-0.37	(0.84)
	Precuneus	-0.64	(1.04)	-0.21	(0.28)	-0.45	(0.91)
Temporal							
	Parahippocampal	-0.59	(0.85)	-0.31	(0.42)	-0.32	(0.80)
	Entorhinal	-0.34	(1.18)	-0.24	(1.03)	-0.19	(0.87)
	Pôle temporal	-0.27	(0.79)	-0.11	(0.92)	-0.20	(0.62)
	Supérieur	-0.46	(0.70)	-0.12	(0.27)	-0.39	(0.61)
	Moyen	-0.60	(0.78)	-0.24	(0.39)	-0.42	(0.69)
	Inférieur	-0.68	(0.79)	-0.29	(0.40)	-0.41	(0.69)
	Transverse	-0.56	(1.04)	-0.40	(0.67)	-0.25	(1.04)
	Berges du sillon temporal supérieur	-0.64	(0.97)	-0.30	(0.33)	-0.46	(0.89)
	Fusiforme	-0.57	(0.83)	-0.25	(0.39)	-0.35	(0.73)
Occipital							
	Latéral	-0.52	(0.93)	-0.26	(0.43)	-0.30	(0.81)
	Calcarine	-0.04	(1.37)	-0.16	(0.51)	-0.01	(1.06)
	Lingual	-0.54	(0.90)	-0.34	(0.48)	-0.28	(0.69)
	Cuneus	-0.41	(1.15)	-0.32	(0.51)	-0.14	(0.98)

Table 4: Moyennes (et déviation standard, DS) des pourcentages de variations annualisés de volume, d'aire et d'épaisseur pour les 34 aires corticales parcellisées. Les valeurs survivant une correction de type Bonferroni (facteur de 34) sont indiquées en gras. Extrait et adapté de Storsve et al., 2014.

On remarque alors qu'en moyenne sur la vie adulte, les régions corticales les plus touchées sont les cortex cingulaire postérieur et antérieur caudal, frontal supérieur et moyen, orbitofrontal, pariétal inférieur, precuneus, parahippocampal, temporal moyen et inférieur ainsi que le fusiforme.

Les auteurs ont ensuite étudié les variations de vitesses annualisées de variation de ces mesures avec l'âge de leurs participants. Les résultats sont présentés en Figure 15.

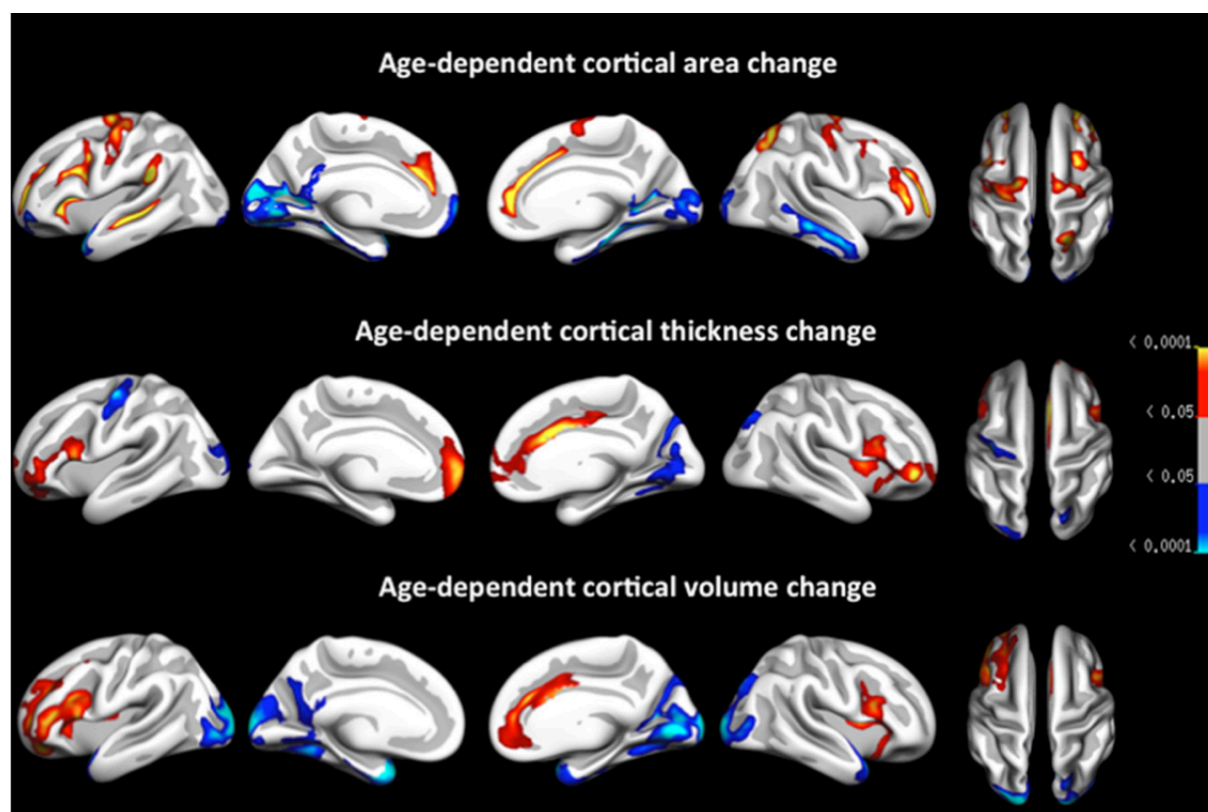
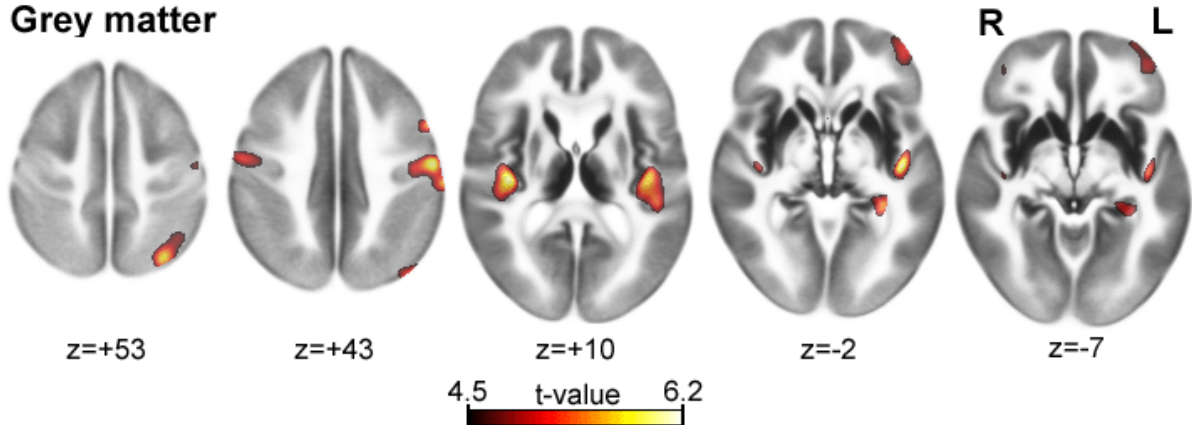


Figure 15: Régions corticales (clusters d'analyse) qui présentent des variations liées à l'âge dans leur pourcentage de variation annualisé. L'échelle rouge-jaune représente les régions dont la vitesse d'atrophie décroît avec l'âge, celle de couleur bleu-cyan représente les régions dont la vitesse d'atrophie augmente. Extrait de Storsve et al., 2014.

Dans les régions présentant une augmentation de la vitesse d'atrophie (réduction du volume) avec l'âge, les auteurs ont rapporté les cortex occipital et temporal avec des accélérations marquées autour de 60 ans pour : le cortex entorhinal, le fusiforme, le précuneus et rétrospénial. Ils ont aussi rapporté certaines régions où la vitesse d'atrophie décélérait avec l'âge : le cortex préfrontal droit, *pars opercularis* et précentral ainsi que l'insula et le cingulaire antérieur.

Une étude transversale antérieure (Lemaître *et al.*, 2005b) réalisée au laboratoire et utilisant une analyse voxel à voxel chez 662 sujets âgés sains issus de la base de données EVA présente des résultats différents (voir Figure 16).

Grey matter



White matter

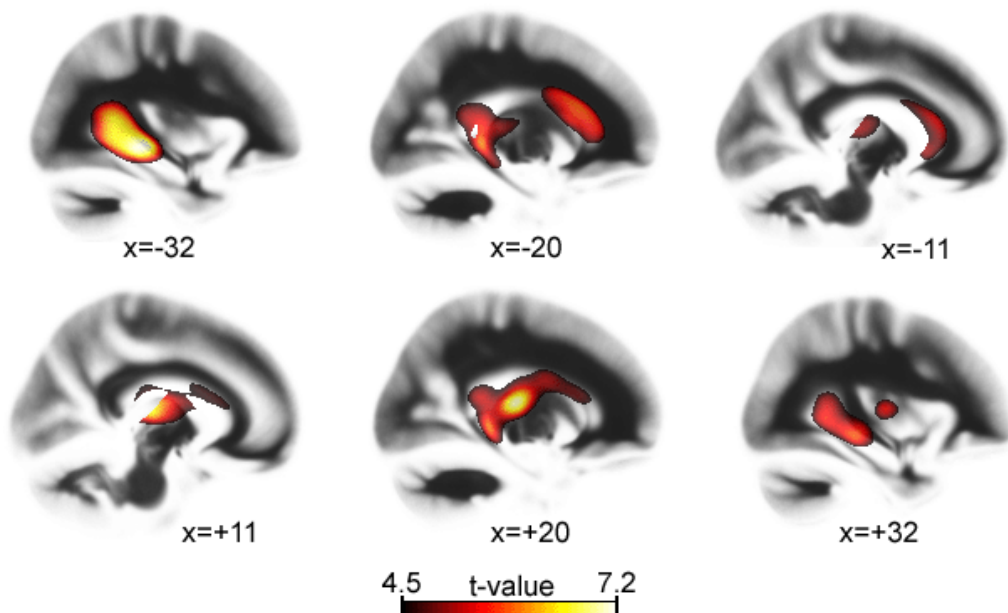


Figure 16: Régions cérébrales présentant une réduction avec l'âge de SG et SB après correction par le volume global du compartiment cérébral considéré. Les cartes de t de Student sont seuillées ($p < 0.05$ corrigé pour les comparaisons multiples) et superposées aux cartes de probabilités de SG et SB. Les coordonnées en x et y (en mm) indiquent la position des coupes axiales et sagittales par rapport au plan horizontal passant par les commissures antérieure et postérieure. Grey matter : substance grise ; White matter ; substance blanche ; L : gauche ; R : droite. Extrait de Lemaître et al., 2005b.

Ici l'atrophie est marquée dans les gyri de Heschl, précentraux et postcentraux, orbitofrontal moyen, pariétal supérieur ainsi que dans l'hippocampe. Concernant la substance blanche, ce sont les fibres longeant les ventricules latéraux et le genou du corps calleux qui sont touchées. Il a aussi été relevé une augmentation de densité pour certaines régions : le noyau caudé, le putamen, le pallidum ainsi que le thalamus.

B. Les structures sous-corticales

a- Les ganglions de la base

L'estimation des volumes des ganglions de la base par segmentation automatisée pose problème à cause de la présence d'interfaces SG/LCR et SG/SB particulières (Lemaître *et al.*, 2005b). En effet, l'augmentation volumique ventriculaire durant l'atrophie cérébrale peut provoquer un déplacement des noyaux gris centraux et une mauvaise estimation. De même, la perte de fibres au niveau de la capsule interne (Abe *et al.*, 2002) peut amener un déplacement des corps cellulaires composant le putamen et le pallidum. Finalement, les hyperintensités périventriculaires de la substance blanche augmentent avec l'âge. Elles forment un hyposignal sur les acquisitions T1, ce qui peut mener à une potentielle classification en SG. Cela peut expliquer en partie pourquoi ces structures ont parfois été rapportées comme ayant un volume augmentant avec l'âge (Good *et al.*, 2001; Lemaître *et al.*, 2005b).

Les ganglions de la base sont impliqués dans la maladie de Parkinson et la chorée de Huntington. Pour la maladie de Parkinson, il est observé une dégénérescence de la *pars compacta* de la substance noire touchant les efférences dopaminergiques vers le striatum (composé du noyau caudé, du putamen et du noyau accumbens). Dans la maladie de Huntington, les ganglions de la base particulièrement touchés sont les noyaux caudé et putamen et surtout leurs efférences vers le noyau lenticulaire et le pallidum.

Durant le vieillissement normal, des auteurs ont trouvé que le striatum était une structure altérée avec des réductions de volume pour le noyau caudé (Jernigan *et al.*, 1991, 2001; Walhovd *et al.*, 2005, 2011; Brickman *et al.*, 2007; Raz *et al.*, 2007; Espeseth *et al.*, 2008; Fjell *et al.*, 2009b; Kalpouzos *et al.*, 2009) ainsi que pour le putamen (Walhovd *et al.*, 2005; Espeseth *et al.*, 2008; Fjell *et al.*, 2009b; Kalpouzos *et al.*, 2009). A noter aussi que pour le putamen, une étude a permis d'observer une atrophie chez les hommes mais pas chez les femmes (Vaidya *et al.*, 2007). Les effets observés sont généralement plus élevés pour le putamen que pour le noyau caudé (Fjell and Walhovd, 2010). Concernant le thalamus, certains auteurs ont relevé une réduction du volume avec l'âge (Sullivan *et al.*, 2004; Cardenas *et al.*, 2005; Walhovd *et al.*, 2005, 2011) alors que d'autres plus anciennes non (Jernigan *et al.*, 1991, 2001). Le noyau accumbens est aussi rapporté dans la littérature étant réduit au cours du vieillissement (Jernigan *et al.*, 2001; Walhovd *et al.*, 2005, 2011) ainsi que le pallidum (Walhovd *et al.*, 2005; Espeseth *et al.*, 2008; Fjell *et al.*, 2009b; Kalpouzos *et al.*, 2009).

Il est à noter que ces altérations structurales sont accompagnées d'altérations fonctionnelles liées à l'âge comme une réduction des sites de fixation des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (Perry *et al.*, 2001), du NMDA et aussi de transporteurs de la dopamine (Villares and Stavale, 2001). De plus, au sein de la base 3 Cités, il a été montré que l'atrophie du noyau caudé était associée avec une réduction de la vitesse de marche chez des sujets âgés sains (Dumurgier *et al.*, 2012).

b- L'hippocampe

L'atrophie de l'hippocampe au cours du vieillissement normal a longtemps été débattue et l'est encore, les auteurs de certaines études rapportant un effet de l'âge (Jernigan *et al.*, 2001; Raz *et al.*, 2004a; Lemaître *et al.*, 2005b; Marcus *et al.*, 2007; Fjell *et al.*, 2009c) alors que d'autres n'ont pas mis en évidence cet effet (Sullivan *et al.*, 1995; Taki *et al.*, 2004; Allen *et al.*, 2005; Fotenos *et al.*, 2005; Kruggel, 2006). Il faut ajouter que dans l'étude de Lemaître *et al.* (2005b) l'analyse était ajustée pour le volume de SG, montrant que l'hippocampe est une structure spécifiquement touchée durant le vieillissement par rapport à l'ensemble de la SG. Dans cette analyse voxel à voxel, les noyaux gris centraux n'étaient pas significativement plus touchés que l'ensemble de la SG.

Néanmoins, une revue récente (Fjell and Walhovd, 2010) note que l'atrophie corticale se situe généralement entre -0.2 et -0.6% annuels lorsque l'hippocampe et le noyaux caudé sont trouvés avec des atrophies supérieures (-0.79 et -0.75% annuels respectivement ; Raz *et al.*, 2005).

C. Différences et similitudes entre vieillissement normal et la maladie d'Alzheimer

L'identification de marqueurs précoces et spécifiques de la maladie d'Alzheimer est un des objectifs majeurs de la neuroimagerie. Le problème est que cette pathologie se développe conjointement avec le vieillissement normal et que ses effets sur la morphologie cérébrale sont observés par-dessus ceux dus au vieillissement normal. Cela provoque un recouvrement des zones impactées dans les deux conditions, rendant difficile l'établissement de spécificités.

La différence principale identifiée pour le moment d'un point de vue structurel concerne les vitesses d'atrophie de certaines régions. Dans une étude récente (Fjell *et al.*,

2009a), les résultats montrent que les vitesses d'atrophie des différentes régions cérébrales étaient plus élevées chez les sujets atteints d'Alzheimer que chez les sujets sains. Néanmoins on parle ici de variables continues, et une différence statistique ne signifie pas la présence d'une limite claire et définie entre les deux groupes. C'est bien là tout l'enjeu de la précision et de la reproductibilité des mesures. Des structures présentent toutefois des différences importantes entre les deux groupes (dans l'ordre d'importance de la différence) : temporal inférieur, fusiforme, temporal moyen, hippocampe, parahippocampe, entorhinal, pariétal inférieur et l'isthme du cingulaire. Concernant l'hippocampe et le *gyrus* temporal moyen par exemple, ils ont relevé une atrophie de -0.84% et -0.47% annuels (respectivement) pour le groupe de sujets sains alors que les sujets atteints de la maladie d'Alzheimer avaient une atrophie estimée à -3.75% et -2.87% annuels (respectivement).

IV. MESURE PAR IRM DE PHÉNOTYPES CÉRÉBRAUX GLOBAUX ET LOCAUX

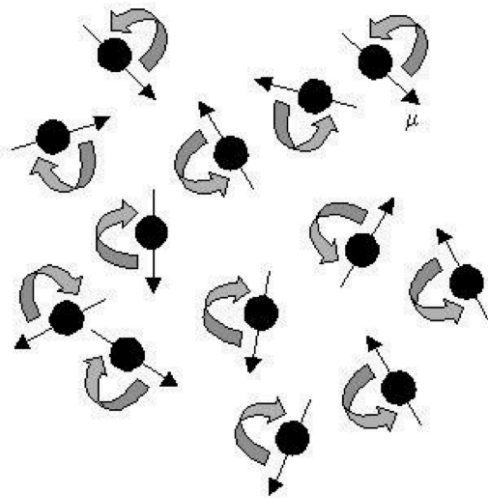
1. PRINCIPE PHYSIQUE

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une méthode non-invasive permettant l'obtention d'images numériques en trois dimensions du cerveau humain d'une précision submillimétrique. C'est la méthode principale d'investigation en neuroimagerie. L'invention par Paul Lauterbur en 1970 de l'IRM repose sur le principe physique de résonance magnétique nucléaire, utilisant les propriétés de la matière et principalement des noyaux d'hydrogène de l'eau.

Ces noyaux d'hydrogène se comportent comme des aimants dont les moments magnétiques (ou spin) sont orientés aléatoirement, la résultante de l'ensemble des moments magnétiques étant nulle. Lorsqu'ils sont placés dans un champ magnétique d'une IRM (champ B_0), tous les spins vont s'aligner parallèlement ou antiparallèlement au champ B_0 , principalement dans le même sens, créant ainsi un moment magnétique non-nul (M_0) (Figure 17).

M_0 étant orienté dans le même sens que B_0 et de bien moindre amplitude, on ne peut le mesurer en l'état. Un deuxième champ magnétique oscillant (B_1) est donc appliqué perpendiculairement au champ B_0 . Le but du champ B_1 est de basculer les spins des noyaux d'hydrogène par rapport à l'axe de B_0 . Pour que le champ B_1 ait cette action, il faut que sa fréquence d'oscillation soit égale à la fréquence de précession des spins des atomes d'hydrogène (fréquence de Larmor). Son intensité n'a pas besoin d'être importante par rapport à B_0 pour avoir cette action, le rapport d'intensité entre les deux pouvant être de 1:4 000 000. B_1 modifiant l'orientation des spins, il modifie l'orientation de M_0 ; la valeur de l'angle entre B_0 et M_0 dépendra de la durée d'application de B_1 .

en l'absence de champ magnétique



en présence d'un champ magnétique

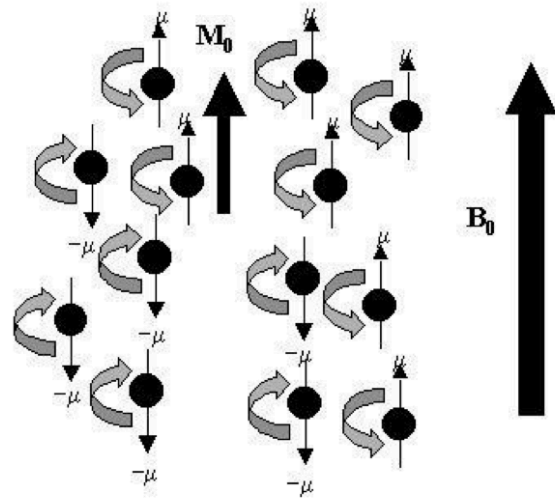


Figure 17. Principe d'orientation des moments magnétiques (ou spins) des noyaux d'hydrogène en l'absence ou en présence d'un champ magnétique. A gauche, en l'absence de champ magnétique, les noyaux d'hydrogène de la matière (ronds noirs) ont un moment magnétique orienté de manière aléatoire. La résultante M de ces moments est nulle. A droite, en présence du champ magnétique B_0 de la machine, tous ces moments magnétiques vont s'orienter suivant l'axe du champ, majoritairement dans le même sens, créant ainsi un moment magnétique non nul, appelé M_0 . Adapté de Houdé et al. (2002).

Les spins qui tournaient déphasés autour de l'axe du champ B_0 (résultants en M_0) sont alors mis en phase et basculés d'un certain angle par rapport à B_0 . On a alors la création d'une composante de M_0 dans le plan perpendiculaire à B_0 que l'on appelle M_{xy} . M_{xy} étant orthogonale à B_0 , on peut mesurer son intensité qui, associée à la valeur de l'angle de bascule induit par $B_{1,e}$ nous permet de retrouver M_0 . Cependant pour mesurer M_{xy} il faut couper le champ B_1 . Cela provoque le déphasage des spins et le retour progressif de l'orientation de M_0 vers l'orientation de B_0 , appelé la relaxation. Ce phénomène progressif est caractérisé par deux constantes temporelles : le temps de relaxation longitudinal (temps T_1) et le temps de relaxation transversal (temps T_2), le premier caractérisant le temps nécessaire pour que M_0 reprenne l'orientation de B_0 et le second le temps nécessaire pour la disparition de la composante transversale M_{xy} à l'arrêt de B_1 (T_1 correspond au temps nécessaire pour que la magnétisation longitudinale de M_0 récupère 63% de sa valeur initiale dans le champ B_0 et T_2 correspond au temps nécessaire pour que M_{xy} perde 63% de sa valeur). Le temps T_2 est toujours plus court que le temps T_1 . Ces valeurs ne sont pas constantes en fonction des tissus considérés mais varient selon leur composition (Table 5). Ce sont ces différences qui sont utilisées en IRM pour distinguer les différents tissus.

Tissu	Densité de protons	T ₁	T ₂
SG (cortex)	10.6	1000	100
SB	10.6	718	80
LCR	10.8	2060	250
Sang	10.0	1200	250
Eau pure	66.6	4760	3500

Table 5: Valeur de la densité de protons (en % du nombre total de noyaux dans le tissu) et des temps de relaxation T₁ et T₂ en millisecondes pour différents tissus dans un champ de 1.5T. Extrait de Houde et al., 2002.

Ces phénomènes de relaxation proviennent principalement de deux mécanismes distincts. Le premier est dû aux interactions entre les spins des protons, l'eau et d'autres molécules donnant des fluctuations locales de B₀. Ces fluctuations sont aléatoires et participent, par un transfert d'énergie, aux relaxations longitudinale et transversale. Ces interactions modifient aussi localement la fréquence de procession des spins, et donc l'interaction avec le champ B₁, résultant en une diminution de la composante transversale. Ce sont les deux constantes de temps, T₁ (repousse du signal longitudinal, M_z) et T₂ (perte du signal transversal, M_{xy}).

Néanmoins il existe un deuxième mécanisme à l'origine de fluctuations macroscopiques du champ de B₀ qui peuvent être liées à des inhomogénéités du champ dues à des défauts de fabrication, à la présence d'un objet dans le champ de l'aimant, ou à la présence locale de particules paramagnétiques (déoxyhémoglobine par exemple). Ces fluctuations locales de B₀ modifient aussi la fréquence de résonance des spins, provoquant un déphasage et donc une relaxation de type transversale. Ces fluctuations ont aussi une constante de temps que l'on note T₂'.

L'ensemble des sources de relaxation transversales ajoutées les unes aux autres sont caractérisées par une constante T₂* telle que : $1/T_2^* = 1/T_2 + 1/T_2'$, qui est donc plus courte que T₂.

2. SÉQUENCES ET CONTRASTES EN IRM.

Le signal d'IRM, la composant M_{xy}, n'est pas mesurable directement à l'arrêt du champ B₁. En effet l'antenne utilisée pour mesurer le signal est la même que celle utilisée pour émettre le champ B₁. Or il existe un « temps mort » rendant impossible l'enregistrement du signal directement après l'arrêt du champ B₁. De plus la décroissance

très rapide de la composante M_{xy} rend son enregistrement sujet à de grandes fluctuations statistiques. Par conséquent, des séquences IRM ont été créées afin d'obtenir une renaissance à distance du signal correspondant à M_{xy} que l'on appelle « écho ». Ces méthodes consistent à rephaser les spins individuels afin de pouvoir enregistrer la repousse et la décroissance de la composante M_{xy} .

A. Les séquences en écho de spin et en écho de gradient

La séquence écho de spin consiste à laisser, après induction de B_1 , les spins se déphaser durant un temps τ , puis à réappliquer le champ B_1 pour provoquer une inversion des spins. Cela amène le système qui se déphasait à faire le mouvement inverse et à se rephaser, jusqu'à obtention du maximum à $t=2\tau$ correspondant à l'écho de la composante M_{xy} . Le temps 2τ correspond au temps d'écho.

La séquence en écho de gradient repose sur l'utilisation du gradient utilisé pour le codage spatial au sein de la coupe afin de rephaser les spins des atomes d'hydrogène. En effet des gradients magnétiques sont appliqués afin de séparer les pixels (ou voxels considérant l'épaisseur de coupe, axes x et y) au sein d'une même coupe (axe z). Ces champs magnétiques ont une influence sur la vitesse de précession des spins, retrouvée dans la fréquence du signal sinusoïdal de l'IRM et qui est analysée en transformée de Fourier, permettant la séparation spatiale. Cette influence est utilisée pour rephaser les spins sans avoir à appliquer un champ d'inversion à 180° comme dans la séquence en écho de spin. En effet, l'application durant un temps τ' d'un gradient négatif (en opposition à la considération que le gradient de lecture est positif) dans le champ B_0 accélère certains spins et en freinent d'autres. Puis le gradient de lecture est appliqué (gradient positif) et il aura réciproquement l'effet inverse, remettant en phase les spins au temps $2\tau'$. Le temps $2\tau'$ après l'arrêt de B_1 est appelé temps d'écho.

B. Le contraste en IRM

Le signal de résonance magnétique nucléaire (RMN) repose sur la mesure de la composante transversale lors du retour à l'équilibre et de la restitution de l'énergie reçue lors de l'émission de B_1 .

Le but de l'IRM anatomique est de pouvoir différencier avec le plus d'aisance possible les différents tissus composant l'organe cible. Cela se fait en pondérant les

acquisitions soit en T_1 , soit en T_2 , soit en densité de protons. Comme nous pouvons le constater en Table 5, le contraste maximum entre la SG et la SB correspond au contraste relatif pour le T_1 (1/0.718, pour le T_2 1/0.8) ; le contraste maximum entre le LCR et les deux autres tissus est en T_2 (1/0.4, pour le T_1 1/0.49). La pondération des acquisitions en IRM se fait en modulant le temps d'écho et/ou le temps de répétition (durée au bout de laquelle la séquence est répétée).

Le temps de répétition (TR) permet de moduler la repousse de la composante longitudinale des spins dans le plan de B_0 . Si on considère les T_1 correspondant à la substance grise et à la substance blanche (1000ms et 718ms respectivement), un TR correspondant à trois fois le T_1 de la SG, donc 3000ms, permet la récupération de 95% de la composante de la SG. Le T_1 de la SB étant plus faible, elle aura aussi récupéré la quasi totalité de sa composante transversale. L'application suivante du champ B_1 , donnera alors des composantes transversales (mesurées) très similaires. À l'inverse, l'utilisation d'un TR court, au contraire, ne laissera pas le temps à la composante transversale de la SG de récupérer sa valeur initiale, alors que celle de la SB (ayant un T_1 plus court) repoussera plus vite, permettant d'obtenir un contraste distinguant les deux tissus. Le temps d'écho (TE) à un effet similaire sur la composante transversale. Un TE court ne laissera pas suffisamment de temps aux spins pour se déphaser, limitant le contraste, alors qu'un TE long permettra de mettre en évidence des différences de T_2 entre les tissus. Ainsi un acquisition d'IRM pondérée en T_1 correspond à un TR court et TE court alors qu'une pondération en T_2 correspond à un TR long avec un TE long. Si on limite à la fois le contraste en T_1 et en T_2 (TR long et TE court), on obtient une pondération en densité de protons. Le signal, dépendant alors peu de l'interaction des protons avec leur environnement et avec les spins des autres protons, dépend de la densité en proton du tissu.

3. MORPHOMÉTRIE PAR IRM

A. Voxel Based Morphometry et SPM.

La VBM, introduite dans les années 1990 puis développée par Ashburner et Friston (Ashburner and Friston, 2000), permet au sein du logiciel SPM (Statistical Parametric Mapping) le traitement et l'analyse des acquisitions d'IRM. Elle inclut des modules permettant le recalage, la normalisation, l'édition et la segmentation des images avant leur analyse. Voici les différentes étapes :

- **La normalisation** : elle permet de mettre les acquisitions de tous les participants dans un espace commun, un gabarit fourni (comme le gabarit MNI) ou une image moyenne de plusieurs des participants. Le nombre de paramètres utilisés affine la normalisation qui utilise : rotation et translation (6 paramètres), +homothétie (9 paramètres), +cisaillement (12 paramètres), +perspective (15 paramètres). Après cette première étape linéaire, une normalisation non-linéaire est appliquée afin d'ajuster localement les différences morphologiques. Deux approches existent, une consistant à laisser une variabilité résiduelle à analyser pour comparer ces variations régionales entre les participants (VBM) et une consistant à éliminer le plus de variabilité possible entre les participants et à les comparer en utilisant les champs de déformation individuels au lieu des cartes normalisées (DBM, *Deformation Based Morphometry*).
- **La segmentation** : un prétraitement permet la correction des inhomogénéités des acquisitions IRM inhérentes à l'instrumentation. Elles peuvent causer des erreurs de segmentation. La segmentation elle-même est entièrement automatisée et basée sur les intensités des voxels. Dans une image pondérée en T_1 , l'intensité des voxels est supérieure dans la SB, légèrement inférieure dans la SG et a une valeur faible pour le LCR (Figure 18).

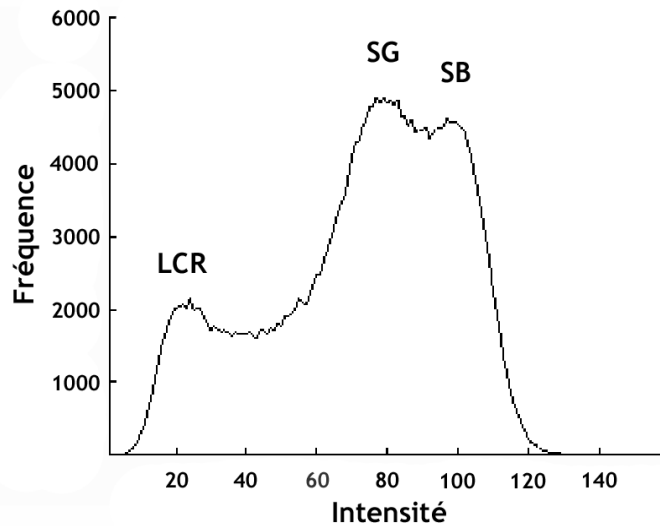


Figure 18: Histogramme d'une IRM pondérée en T1, laissant apparaître trois pics d'intensité différents : LCR, SG, SB. Extrait de Houdé et al., 2002.

En considérant le chevauchement des intensités entre la SG et la SB, une information complémentaire est nécessaire afin de les discriminer correctement. SPM fait appel à la connaissance *a priori* de la distribution spatiale des différentes classifications dans l'espace commun (Ashburner and Friston, 1997) avec les cartes d'*a priori* de probabilités de SG, SB et LCR fournies dans SPM (gabarit MNI) ou créées avec des images moyennes des participants. La probabilité *a posteriori* pour chaque voxel d'appartenir à un des trois tissus (classification) est déterminée par le ratio du produit de la probabilité d'appartenir à une classification k en fonction de l'intensité i par la probabilité *a priori* d'appartenir à la classe k indépendamment de i sur la probabilité d'obtenir l'intensité i indépendamment de k . L'importance des gabarits spécifiques vient du fait que le gabarit MNI a été réalisé avec des sujets âgés de 18 à 44 ans. Les volumes variant avec l'âge (et donc les probabilités d'appartenir aux différentes classes), cela pourrait mener à la mauvaise classification de certains voxels.

- **Modulation** : l'étape de normalisation consiste à déformer les cerveaux individuels dans l'espace commun, résultant en l'expansion ou la compression des régions cérébrales. Afin de conserver la quantité de matière présente, l'étape de modulation consiste à ajuster l'intensité de chaque voxel par la quantité de déformation subie, enregistrée dans les cartes de déformations, ou matrices Jacobiennes, durant l'étape de normalisation (voir Figure 19).

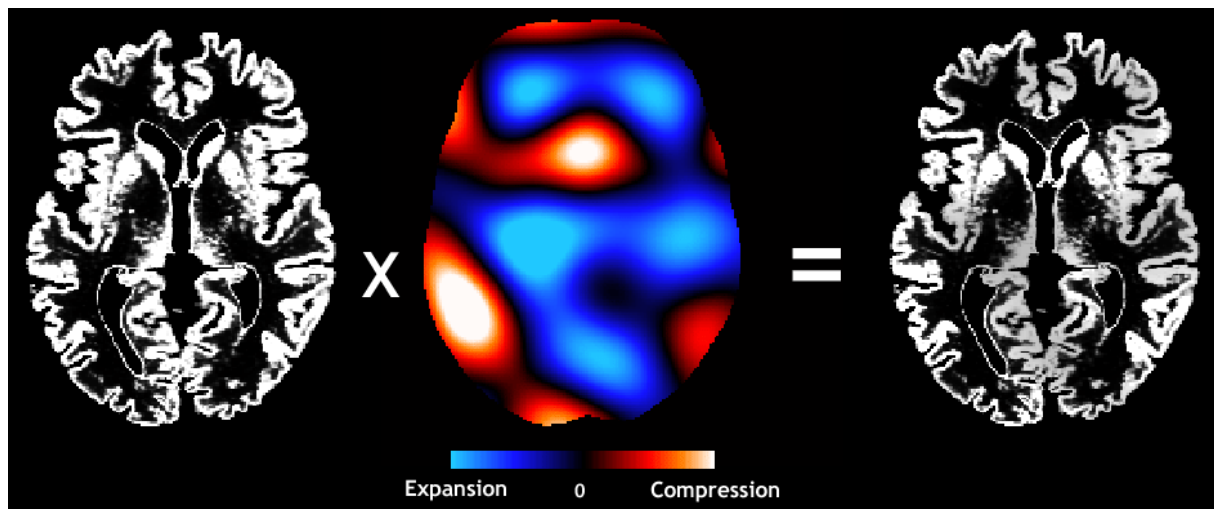


Figure 19: Représentation de l'étape de modulation sur les coupes axiales d'une image de SG. Les valeurs des voxels appartenant à l'image de SG (à gauche) sont ajustées par l'image de Jacobiens (au milieu) découlant des champs de déformation estimés pendant la normalisation spatiale. L'échelle de couleurs représente les zones de compression en rouge et les zones d'expansion en bleu. Ces différentes zones se retrouvent dans l'image modulée (à droite) avec des variations d'intensité par rapport à l'image de départ. Extrait de la thèse d'Hervé Lemaître (2005).

- **Volumétrie globale :** dans le cas d'une image binaire, le volume en voxels correspond à l'intégrale des valeurs contenues dans l'image. Dans SPM, les images segmentées et normalisées indiquent donc le volume en voxels dans l'espace commun, l'étape de modulation permettant l'estimation du volume dans l'espace natif de chaque sujet en unité de voxels. L'intégrale des probabilités des images normalisées, segmentées et modulées de SG, SB et LCR fournit donc une estimation des volumes globaux respectifs, et donc du VTI (la somme SG+SB+LCR), en voxels. La multiplication de cette intégrale par la taille des voxels (1mm^3 pour la base 3C-MRI) permet finalement l'estimation du volume en unité internationale.
- **Lissage :** cette étape consiste à appliquer un filtre de type Gaussien isotrope sur les images. Cela rend interdépendantes les intensités de voxels voisins et a pour premier intérêt de limiter les variabilités interindividuelles résiduelles après l'étape de normalisation. De plus, cela augmente la normalité des données (théorème central limite) et donc la validité des tests statistiques ultérieurs (Ashburner and Friston, 2000). La taille du filtre doit être comparable à la taille des différences régionales attendues (Poline and Mazoyer, 1994), mais aussi faire le compromis entre l'amélioration de la

normalité des données et la diminution de la résolution spatiale induite par le filtre.

- **Analyse statistique :** l'intérêt principal de l'approche VBM est qu'elle permet de réaliser l'ensemble des analyses statistiques au niveau du voxel et non pas au niveau de régions d'intérêt tracées manuellement. SPM utilise le modèle linéaire généralisé (Friston *et al.*, 1994) qui permet de prédire les valeurs d'une variable observée à partir d'une combinaison linéaire de régresseurs, les variables explicatives. Le même test (t-test, ANCOVA, ANOVA, etc.) étant appliqué pour chaque voxel de l'image, une correction pour les comparaisons multiples peut-être appliquée afin d'éviter les erreurs de type 1. Le résultat de l'analyse est une carte de t ou de F dans laquelle les effets de la variable étudiée sont visibles localement et sont localisables précisément grâce à l'utilisation des coordonnées stéréotaxiques.

B. Surface Based Morphometry et FreeSurfer.

La *Surface Based Morphometry*, ou SBM, est une technique de morphométrie introduite à la fin des années 1990 (Dale *et al.*, 1999; Fischl *et al.*, 1999; Fischl and Dale, 2000) et est implémentée au sein du logiciel FreeSurfer (<http://freesurfer.net/>).

Brièvement, le pipeline automatisé de FreeSurfer inclut la correction des inhomogénéités de champ magnétique de l'IRM et la suppression du crâne. Par la suite, le logiciel identifie la substance blanche par l'intensité et des contraintes de voisinages *a priori*, puis sépare les deux hémisphères et enlève le tronc cérébral ainsi que le cervelet. FreeSurfer va alors générer une première surface entourant la substance blanche, améliorée par la suite en suivant les gradients d'intensité entre la SG et la SB (la surface blanche). Une deuxième étape consiste à amener cette surface à suivre les gradients d'intensité entre la SG et le LCR pour former une deuxième surface, la surface piale (Figure 20). Ces surfaces sont des mosaïques de vertex (160000 par hémisphère) qui sont les structures unitaires de ces surfaces (comme le voxel est la structure unitaire en VBM). Une reconstruction tridimensionnelle est opérée par le logiciel pour la visualisation.

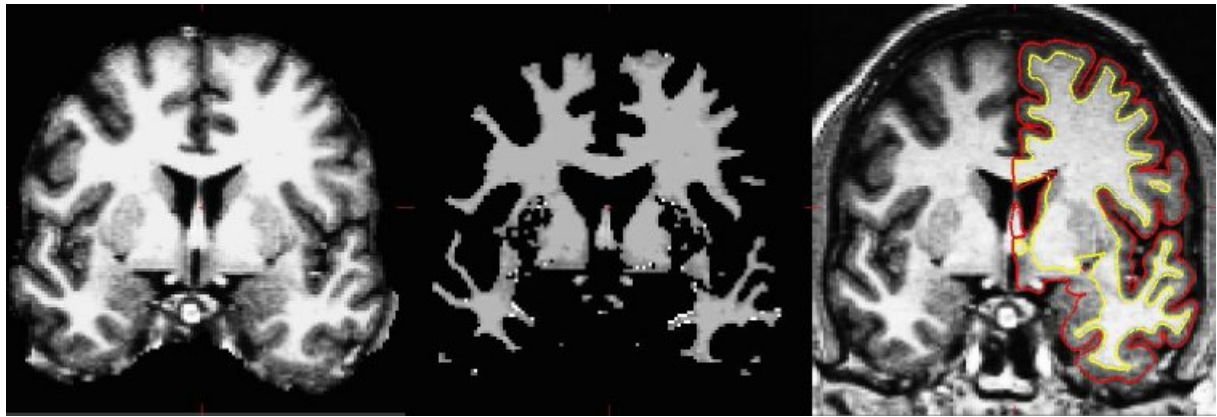


Figure 20: Les trois étapes du pipeline de FreeSurfer : la suppression du crâne (à gauche), l'identification de la substance blanche (au milieu) et la création des deux surfaces (à droite) blanche (en jaune) et piale (en rouge).
Image obtenue sur <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/FreeSurferAnalysisPipelineOverview>

Une fois que ces deux surfaces ont été générées (et corrigées manuellement si nécessaire) le logiciel génère, et ce pour chaque vertex, plusieurs variables automatiquement :

- CT (*Cortical Thickness*) : l'épaisseur corticale, représentant la distance séparant les surfaces blanche et piale selon un vecteur normal à la surface piale,
- CSA (*Cortical Surface Area*) : l'aire de la surface corticale (de la surface piale),
- CV (*Cortical Volume*) : le volume cortical obtenu en multipliant CT par CSA,
- SULC (*SULCal depth*) : la profondeur sulcale qui est mesurée en intégrant le produit scalaire du vecteur de mouvement pendant l'inflation avec le vecteur normal à la surface au niveau de chaque nœud,
- CURV (*CURVature*) : la courbure, la quantification des motifs de plis cérébraux, est estimée à partir de la relation spatiale du vertex avec les vertex voisins. Le résultat est l'inverse du rayon d'un cercle tangent à la surface du vertex.

En plus de ces variables générées pour chaque vertex, FreeSurfer génère aussi le VTI (somme de SG, SB et LCR), l'épaisseur corticale moyenne de l'intégralité du cortex, l'aire de la surface corticale totale, le volume total de SG et de SB corticales.

La variable CURV est utilisée dans une normalisation spatiale non-linéaire basée sur la surface afin d'amener les participants dans un espace commun sphérique. Comme pour

la VBM, des espaces communs sont fournis et il est possible d'en créer un à partir des images de ses propres participants.

Cette méthode permet avec la reconstruction tridimensionnelle différentes visualisations (Figure 21). Cela permet l'observation de la profondeur des *sulci*, facilitant l'exploration de résultats s'y situant.

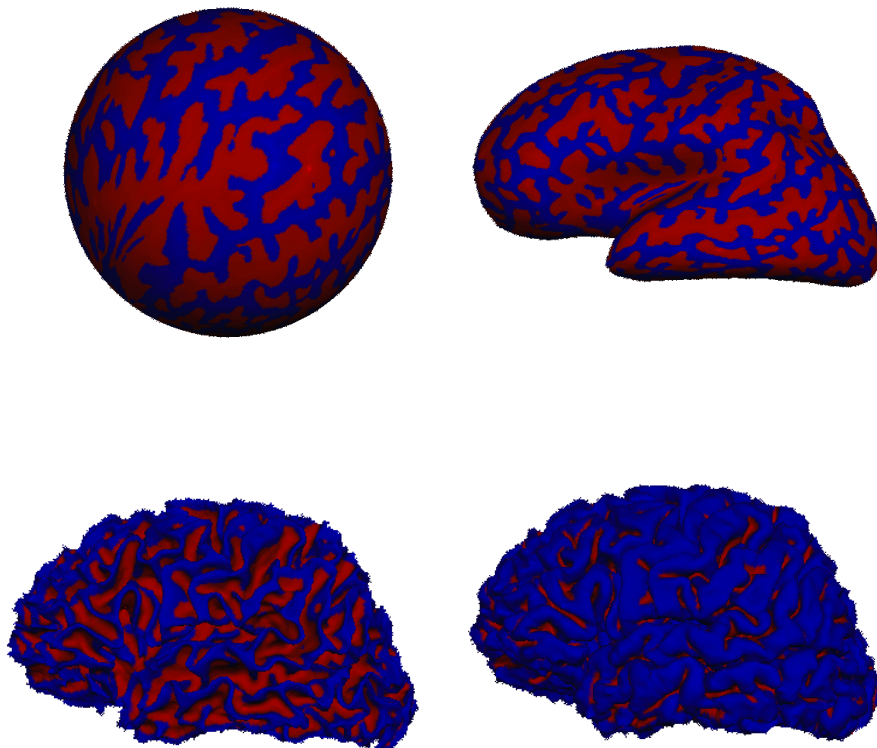


Figure 21 : Reconstruction des surfaces blanche (sphérique en haut à gauche, inflatée en haut à droite et normale en bas à gauche) et piale (en bas à droite) d'un hémisphère obtenues avec FreeSurfer. Les gyri sont représentés en bleu et les sillons en rouge. Illustrations réalisées par Sophie Maingault sur un sujet de la base BIL&GIN.

4. VOLUMÉTRIE RÉGIONALE : ATLAS AAL.

L'atlas AAL est un atlas développé au sein du laboratoire (Tzourio-Mazoyer *et al.*, 2002). L'objectif initial était de palier aux difficultés de localisation des résultats en IRM fonctionnelle. En effet, le principe de l'IRM fonctionnelle repose en partie sur le lien

existant entre fonction et structure, rendant l'identification de cette dernière fondamentale dans l'analyse des activations observées.

Comme nous l'avons vu précédemment, les images des participants des études sont normalisées dans un espace commun afin de permettre leur comparaison. Classiquement c'est le gabarit MNI (Montreal Neurological Institute)² qui est utilisé. Or les images moyennes, à causes des fortes variabilités interindividuelles dans la structure cérébrale, sont pauvres en informations anatomiques et les résultats étaient alors projetés sur une image individuelle haute résolution pour identification des structures. Cela était approximatif, encore une fois dû à la variabilité interindividuelle. Certains utilisaient alors l'atlas de Talairach avec les aires de Brodmann, mais l'imprécision de celui-ci (cerveau d'un sujet de 60 ans avec des coupes de 4mm) et la difficulté de ramener les coordonnées dans l'espace MNI rendaient les localisations imprécises.

L'idée était alors de partir d'une image individuelle provenant du Montreal Neurological Institute (image moyenne de 27 acquisitions du même sujet) et de proposer une parcellisation de la structure cérébrale. En utilisant un logiciel permettant la visualisation et le suivi en 3D de repères anatomiques (Voxeline, Diallo *et al.*, 1998), les structures ont été délimitées manuellement sur des coupes séparées de 2mm. La délimitation de la coupe intermédiaire (1mm) était estimée par une interpolation par plus proche voisin (interpolation arrondie) avant reconstruction tridimensionnelle. Finalement chaque région délimitée s'est vue assigner un niveau de gris correspondant à son codage. La résultante est une parcellisation du cerveau en 45 régions par hémisphère cérébral, 9 régions par hémisphère cérébelleux et 8 régions pour le vermis donnant un total de 116 régions (voir Figure 22).

² Le gabarit MNI a été créé afin de fournir un espace commun pour les analyses d'IRM. Il existe un gabarit moyen de plusieurs sujets ou un gabarit haute résolution d'un seul sujet. Les détails sont disponibles ici : <http://www.nil.wustl.edu/labs/kevin/man/answers/mnispace.html>.

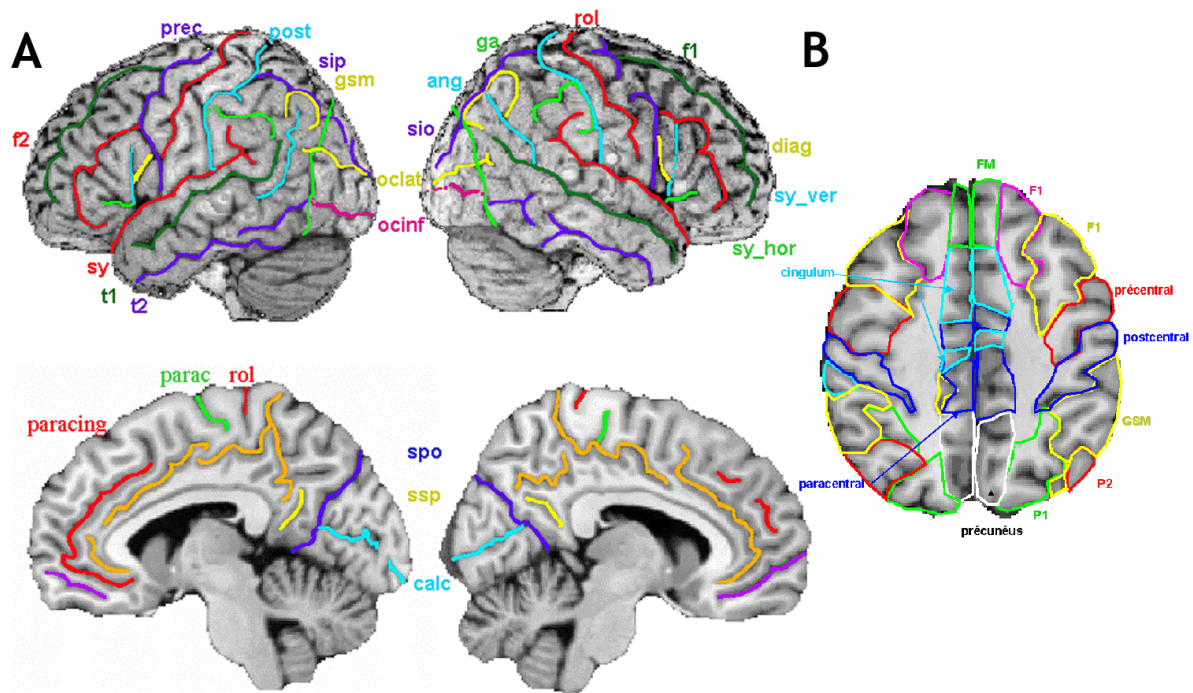


Figure 22 : Parcellisation anatomique macrostructurelle. A : vues latérales et médianes de l'image IRM du MNI sur lesquelles ont été tracées les principaux sillons. F2 : sillon frontal inférieur ; sy : scissure de sylvius ; sy_ver : rameau ascendant de sylvius ; sy_hor : rameau horizontal de sylvius ; rol : scissure de Rolando ; pre : sillon précentral ; post : sillon postcentral ; sip : sillon intrapariétal ; sio : sillon intraoccipital ; t1 : sillon temporal supérieur ; t2 : sillon temporal inférieur ; ga : gyrus angulaire ; gsm : gyrus supramarginal ; sa : sillon angulaire ; oclat : sillon occipital latéral ; occinf : sillon occipital inférieur ; Cing : sillon cingulaire, paracing : sillon paracingulaire ; parac : sillon paracentral ; spo : sillon pariéto-occipital ; ssp : sillon sous pariétal ; calc : scissure calcarine. B : Exemple de parcellisation en régions d'intérêt anatomique sur une coupe axiale de l'image IRM du MNI. FM : frontal médian, F1 : frontal supérieur ; F2 : frontal moyen, GSM : gyrus supramarginal ; P1 : pariétal supérieur ; P2 : pariétal inférieur. Extrait de Houdé et al., 2002.

Cette méthode de labellisation a été implémentée dans Matlab afin d'être compatible avec le logiciel SPM. L'utilisateur effectue ses analyses, puis sélectionne l'Atlas AAL dans la boîte à outils du logiciel. Celui-ci lui présente une fenêtre pour sélectionner le type de labellisation souhaitée (voir ci-après), puis le fichier de résultats de Matlab à analyser ainsi que les paramètres classiques de l'analyse SPM : le contraste, le seuil statistique et la taille de cluster minimale. Cette routine extrait alors les clusters significatifs et indique la labellisation selon la méthode sélectionnée. Il y a trois méthodes de labellisation fournies avec l'atlas AAL :

- *Local maxima labeling* : correspondant simplement à l'assignement du maximum local de significativité au label de la région auquel il appartient. Si il n'appartient à aucun label, les trois les plus proches sont indiqués avec leurs distances minimales du cluster.

- *Extended local maxima labeling* : définit un volume sphérique autour du maximum de significativité local, dont le rayon est défini par l'utilisateur. Les labels inclus dans ce cercle sont alors indiqués avec le pourcentage de la sphère qu'ils composent individuellement.
- *Cluster labeling* : même procédure que pour le *extended local maxima labeling*, mais cette fois c'est l'intégralité du cluster qui est considéré au lieu d'une sphère entourant le maximum local.

L'avantage de cet atlas ne se limite pas à la labélisation de régions cérébrales dans les analyses fonctionnelles dans l'espace MNI. Il permet aussi de le faire pour les analyses anatomiques (le principe de cluster étant identique que l'on considère une activation fonctionnelle ou une variation de densité tissulaire). On peut estimer les volumes de chacune des régions définies par cet atlas en calculant l'intégrale des voxels contenus dans les limites de la région définies par l'atlas. De plus, cet atlas peut-être transposé dans un autre espace commun. Pour cela il suffit de prendre l'espace commun MNI et de le déformer vers l'espace commun « cible » (ici par exemple, l'espace commun des participants de l'étude 3C-MRI). Si l'on récupère la carte de déformation ainsi obtenue et qu'on l'applique à l'atlas AAL, on place ce dernier dans l'espace commun souhaité.

Dans notre thèse, nous avons utilisé cet atlas pour obtenir les volumes de l'hippocampe et des noyaux gris centraux.

5. HYPERSIGNAUX DE LA SUBSTANCE BLANCHE (HSB)

A. Caractéristiques

Les hypersignaux de la substance blanche se réfèrent à des zones hyperintenses sur une acquisition IRM pondérée en T_2 . Les HSB reflètent une pathologie vasculaire cliniquement silencieuse. Au sein de la cohorte 3C, ils ont été associés avec diverses altération telles que le ralentissement de la marche (Soumaré *et al.*, 2009), la dépression (Godin *et al.*, 2008), les troubles de la mémoire (Stewart *et al.*, 2008) ou le risque d'accident vasculaire cérébral (Buyck *et al.*, 2009). Leur progression a été associée avec la pression artérielle dans l'étude 3 Cités (Godin *et al.*, 2011). De plus, les auteurs d'une étude récente (Mortamais *et al.*, 2013) ont indiqué qu'une localisation particulièrement temporale associée à une charge globale élevée était prédictive de la conversion vers une déficience cognitive légère (MCI, *Mild Cognitive Impairment*).

B. Détection

Un algorithme utilisable sur les acquisitions IRM en DSP, telles que celles de l'étude 3C, permettant la détection, la quantification et la localisation des HSB a été développé dans le laboratoire durant la thèse de Pauline Maillard (Maillard *et al.*, 2008). C'est cet algorithme qui a produit les volumes de HSB utilisés pour calculer la charge en HSB dans ce travail de thèse. En voici les principes généraux :

- **Paramètres initiaux** : comme pour la segmentation des tissus cérébraux dans SPM, la détection des HSB sur les images d'IRM repose à la fois sur l'intensité du signal et sur une carte de position *a priori*. Le paramètre initial correspond à la moyenne et la déviation standard de l'intensité sur les cartes. La première étape était donc, sur les acquisitions IRMs (T_1 , T_2 et DP), de dessiner les contours des HSB afin d'en obtenir ces valeurs. Comme on peut le constater sur la Figure 23, l'intensité des HSB est modelée selon deux distributions Gaussiennes contrairement à la SG, la SB ou le LCR. Cela augmente la variabilité de l'intensité et donc les possibilités de mauvaise classification. Les deux sous-types de HSB ont été donc modélisés avec des paramètres initiaux différents afin d'optimiser la détection.

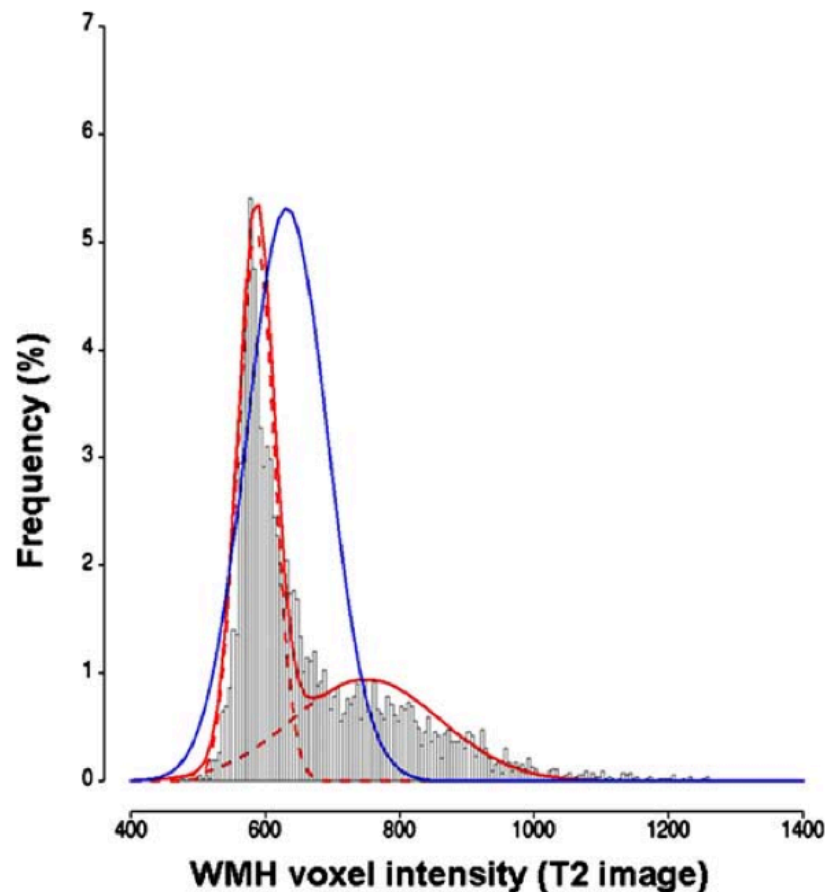


Figure 23: Histogramme de la distribution des fréquences d'intensité des voxels de HSB détectés sur les acquisitions T_2 d'un sujet de la base 3C. Notez que la distribution est mieux modelée avec deux distributions Gaussiennes (ligne rouge pointillée) plutôt qu'avec une seule distribution Gaussienne (ligne bleue). Extrait de Maillard et al., 2008.

- **Amélioration du masque de SB** : la création de la carte *a priori* pour la détection des HSB a commencé avec le masque de substance blanche, qui a été affiné afin d'exclure les mauvaises classifications telles qu'observées aux limites SG/LCR ou dues aux effets des volumes partiels (du fait du filtrage de l'image diminuant le contraste entre les tissus) entre SB et HSB par exemple.
- **Carte segmentée de HSB** : à partir du masque de SB, une carte des HSB des deux classes est créée.
- **Élimination des faux positifs** : lors d'essais préliminaires, certains voxels ont été faussement classés comme HSB. Les espaces de Virchow-Robin par exemple ont une intensité similaire à celle des HSB, ils ont été éliminés en améliorant le masque de LCR et en éliminant tout HSB détecté à plus de 50%

dans le masque de LCR. Certains voxels de SB ont été classés comme HSB tout en étant normaux et présentant une intensité plus faible que la SB sur les acquisitions T_2 , ils ont été supprimés en enlevant tout HSB ayant une intensité plus faible que la SB normale.

- **Carte de probabilité** : la carte segmentée ne contenant que les HSB a été utilisée afin de créer des cartes de probabilités individuelles de HSB pour les deux sous-types (en fonction des paramètres initiaux), leur somme donnant la carte de probabilité de HSB individuelle. Toutes les cartes ramenées dans l'espace MNI par normalisation sont alors moyennées afin d'obtenir une carte moyenne de probabilité de HSB.

Dans notre thèse, nous avons utilisé les résultats obtenus par Pauline Maillard, qui a appliqué cet algorithme à la base 3C pour calculer la charge globale en HSB de chaque individu. Nous avons utilisé cette charge comme covariable dans nos analyses.

CHAPITRE 2 : Facteurs de risque du vieillissement cérébral : études par IRM de cohortes de sujets âgés.

I. ETUDES DE COHORTES DE SUJETS ÂGÉS PAR IRM

Synthèse de la revue réalisée par J Wardlaw dans le cadre du groupe de recherche européen JNPD (Wardlaw, 2013).

À l'heure actuelle il existe un grand nombre de cohortes, aussi bien transversales que longitudinales, couvrant toutes les tranches d'âge de la vie et une grande variété de facteurs de risques ou de maladies. Par contre, la comparabilité entre les différentes études varie considérablement et ce pour plusieurs raisons dont des différences dans l'échantillonnage des participants, dans l'intensité d'investigation et dans le taux de réponse des participants. Les études portant sur le vieillissement peuvent être soit mises en place spécifiquement ou être mises en place dans des cohortes prévues pour d'autres investigations en ajoutant des mesures cognitives, génétiques ou d'imagerie.

Malgré la grande diversité apparente de ces études, il existe des manquements dans le processus d'identification des facteurs de risque. Par exemple, peu d'études mises en place ont la possibilité d'identifier puis de tester des marqueurs de diagnostic précoce ou de pronostic de la démence préclinique dans les maladies neurodégénératives (MN). De même, peu d'études ont été mises en place pour étudier la variation intergénérationnelle de prévalence et d'incidence des MN. Finalement, les études sont souvent focalisées sur une pathologie, alors que l'étude de pathologies liées scientifiquement, telles que les maladies des motoneurones et la démence fronto-temporale ou la maladie de Parkinson et la démence à corps de Lewy, pourrait faire avancer l'étiologie des deux maladies conjointement.

Les cohortes actuellement en place (exemples en Table 6) offrent malgré tout la possibilité de mise en place d'études de prévention et d'intervention sur le long terme. La compétition internationale de publication entre les différentes cohortes, qui souvent détermine leurs financements ultérieurs, peut créer une opposition là où il devrait y avoir synergie, tout du moins au niveau européen. Certaines études pourraient ainsi être regroupées, augmentant conséquemment la puissance statistique permettant la mise en évidence d'interactions. Cela est particulièrement vrai pour les études pangénomiques où la puissance statistique requise est conséquemment plus importante que pour les études des phénotypes morphologiques ou physiologiques. De plus un échantillonnage plus large

de la population permettrait l'étude des variations ethniques dans les phénotypes, mais aussi l'étude de maladies neurodégénératives à la prévalence faible comme les maladies des motoneurones ou la sclérose latérale amyotrophique. Mais encore, les très grandes cohortes permettraient l'inclusion de toutes les MN dans les analyses pangénomiques permettant potentiellement de délimiter les influences de chaque gène sur une ou plusieurs MN mais aussi d'étudier les interactions entre différentes maladies.

Étude	Participants	Date de début	Taille	Âge d'inclusion	Données		
					Cognition	Neuro imagerie	Données génétiques
Framingham Heart Study	Population générale (3 générations)	1948	14428	Tout âge	Oui	Oui	Oui
Rotterdam Study	Population générale	1990	15000	+55 ans	Oui	Oui	Oui
AGES Reykjavik	Population générale	1994	5764	+67 ans	Oui	Oui	Oui
3 Cités	Population générale	1999	9294	+65 ans	Oui	Oui	Oui

Table 6 : Résumé des caractéristiques principales de certaines cohortes d'ampleur particulière dont certains résultats sont discutés dans ce travail de thèse.

L'hétérogénéité entre les différentes études est le principal frein et impose de nouvelles approches pour permettre le regroupement des données. La première étape serait alors de promouvoir la collection des méthodes d'évaluation ainsi que les protocoles utilisés par les études. Cela requiert aussi mise en place de paramètres minimums tout en assurant la flexibilité nécessaire à l'inclusion d'approches émergentes sans devoir établir une nouvelle cohorte. De même, quand cela est possible, les études de population normale, à risque ou malade devraient phénotyper de la façon la plus complète possible en utilisant des techniques en place (étude du LCR, imagerie en TEP, etc.) ou émergentes lorsque leurs performances sont validées telles que les approches « omics » (pour l'anglais *genomics, proteomics and metabolomics*), l'imagerie moléculaire ou les cellules pluripotentes induites.

Enfin, les études mises en place autour du milieu de vie devraient être planifiées pour identifier et tester les caractéristiques potentielles des stades prodromaux ou précliniques des MN, avec la mise en place d'un suivi au long terme nécessitant un

financement programmé, une base de données stable et évolutive avec le maintien d'un contact avec les participants. Mais surtout, le développement d'approche couvrant la totalité de la vie des participants serait d'un intérêt majeur. L'étiologie de la longue incubation des maladies neurodégénératives pourrait bénéficier de l'analyse de données collectées prospectivement durant l'enfance, l'adolescence et l'âge adulte. Cela est particulièrement vrai pour l'hypertension ou le traitement hormonal substitutif (voir CHII.II.2 et CHII.II.3) Le suivi au long terme implique aussi une régularité afin de permettre d'établir les trajectoires des phénotypes d'intérêt au cours de la vie, mais aussi de leurs associations avec les facteurs de risque. Aussi, une standardisation européenne permettrait l'analyse de l'influence des modes de vie associés à la grande diversité culturelle de l'Europe, des interactions gènes/environnement et de la prestation des services de santé de chaque pays.

La mise en place d'interconnexions entre les données prélevées pour les études avec les données des dossiers médicaux et des services sociaux offre la possibilité d'enrichissement des bases de données, ce qui avec l'harmonisation des données cliniques permettrait le partage inter-centres. Cela néanmoins demanderait la mise en place d'une protection des données ainsi que d'un contrôle d'accès afin de garantir la bonne utilisation de ces ressources en accord avec les participants. Le développement de plateformes informatiques avancées permet la facilitation de la capture de données et leur partage, mais aussi de l'analyse de données intensives (puissance de traitement de la plateforme) ainsi que le partage des méthodes d'analyses biostatistiques, qui est critique pour la réussite de tels projets. Cela est particulièrement vrai en ce qui concerne le potentiel offert par les analyses en imagerie multimodales qui requiert l'harmonisation des protocoles d'acquisition ainsi que la compatibilité logicielle de la chaîne de traitement et d'analyse des données.

Les études longitudinales avec des points de suivi multiples pourraient aussi permettre d'établir des relations de causalité entre les différents marqueurs identifiés. Les différences entre initiateurs et promoteurs ainsi que leur temporalité ne sont pas encore établies. À ce titre, l'initiative internationale MELODEM³, coordonnée en France, est à suivre avec comme objectif l'harmonisation des approches analytiques en recherche longitudinale sur la démence pour favoriser le développement de méthodes d'analyses statistiques des suivis multiples afin de déterminer causes et conséquences. Il y a aussi un

³ MEthods in LONGitudinal Research in DEMentia Initiative.

besoin d'études caractérisant les sujets d'âge extrême, ce qui nécessiterait un suivi très régulier afin d'atténuer l'attrition statistique due à la mortalité.

II. EFFET DE LA CONSOMMATION DE TABAC SUR LE VIEILLISSEMENT NEUROANATOMIQUE

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS, 2014) le tabac est consommé par un milliard de personnes, en tuera approximativement la moitié de maladies liées au tabac avec actuellement une estimation de 5 millions de personnes par an.

La cigarette, lorsqu'elle est consommée, induit l'absorption de plus de 4000 composés lors de sa combustion. Le plus connu de ces composés est la nicotine, un ligand des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, présumée responsable de la dépendance à la consommation de cigarette (Henningfield *et al.*, 1985). L'inhalation de la fumée de cigarette, outre l'absorption de nicotine, induit une augmentation du stress oxydatif (*via* les espèces réactives de l'oxygène, abondantes dans la fumée de cigarette ; Pryor and Stone, 1993) ainsi que la concentration plasmatique de marqueurs inflammatoires (protéine C-réactive, fibrinogène et leucocytes ; Wannamethee *et al.*, 2005). Les auteurs de la dernière étude précisent aussi que la viscosité sanguine est réduite chez les fumeurs. De plus, la consommation de tabac augmente la formation d'athérosclérose, entre autres par l'oxydation des LDL (Erhardt, 2009) et l'augmentation du recrutement des monocytes par les cellules endothéliales (Nordskog *et al.*, 2003) qui, devenant macrophages et absorbant le LDL oxydé, forment les cellules spumeuses pouvant être à l'origine des plaques d'athérome (Badrnya *et al.*, 2014). Les conséquences du tabac sur le système vasculaire sont aussi variées que les molécules qui composent la fumée de cigarette mais on pourrait résumer la situation plus simplement : les fumeurs ont plus de risques de développer une des maladies liées au tabac : maladie coronarienne (2 à 4 fois le risque), attaque cérébrale (2 à 4 fois le risque), cancer du poumon (25 fois le risque) (Surgeon General, 2014), en plus d'augmenter le risque de maladies cardio-vasculaires (Hammond, 1966; Hecht *et al.*, 2013) ou de diabète (Will *et al.*, 2001).

Face à ces effets délétères du tabagisme sur le cerveau, il convient d'opposer certains effets positifs de la nicotine sur le fonctionnement cérébral. En effet, il a été observé que la prévalence de la maladie de Parkinson était plus faible chez les fumeurs et que l'effet était dose-dépendant (Morens *et al.*, 1995; Baron, 1996; Gorell *et al.*, 1999; Quik and Kulak, 2002), association confirmée dans une étude avec des jumeaux (Tanner *et al.*, 2002). Les auteurs d'une autre étude (Tzourio *et al.*, 1997) ont indiqué que le rapport

des chances d'avoir la maladie d'Alzheimer chez les fumeurs était modulé par l'âge, avec une diminution du risque pour les sujets jeunes et une tendance à l'augmentation du risque pour les sujets âgés. Le sujet est alors repris par dans des études physiologiques avec pour objectifs d'identifier les mécanismes possibles soutenant cette observation. La maladie de parkinson se caractérise par la perte de neurones dopaminergiques dans la substance noire. La nicotine est un agoniste des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, présents dans les ganglions de la base en quantité importante, et a été montrée comme pouvant induire une transmission dopaminergique par substance noire (Grady *et al.*, 1992; Zhou *et al.*, 2001). Les résultats d'une étude chez la souris ont montré que la transmission induite dépendait du nombre de récepteurs nicotiniques présents (Quik *et al.*, 2003). Il a aussi été montré que l'utilisation conjointe d'un agoniste des récepteurs nicotiniques avec la L-DOPA permettait d'obtenir une réduction des symptômes équivalente à celle observée avec de fortes doses de L-DOPA, en réduisant les complications motrices observées avec ce traitement seul (Schneider *et al.*, 1998).

Une revue de la littérature (Quik, 2004) a listé les mécanismes cellulaires possibles liant la nicotine à l'effet neuroprotecteur observé en culture cellulaire (O'Neill *et al.*, 2002; Quik and Kulak, 2002). On peut voir dans la Figure 26, extraite de cette revue, qu'ils considèrent 3 voies possibles : une ne passant pas par les récepteurs nicotiniques, et deux passant par ces récepteurs, présynaptiquement ou postsynaptiquement.

Les récepteurs nicotiniques ont leur action modulée par le calcium et y sont très perméables (Vernino *et al.*, 1992). Ils peuvent, par la signalisation calcique intracellulaire, moduler l'activation des caspases (Garrido *et al.*, 2001), la synthèse d'oxyde nitrique (Toborek *et al.*, 2000) ainsi que d'autres médiateurs de l'apoptose tel que Bcl2 (Mai *et al.*, 2003). Par le même mécanisme, la nicotine peut induire l'expression de modulateurs de la fonction immunitaire tels que les interleukines IL-1 α , IL-1 β et IL-6 ainsi que le facteur TNF- α (Hopkins and Rothwell, 1995; Vila *et al.*, 2001; Orr *et al.*, 2002) ce qui amène une neuroprotection par l'expression de facteurs neurotrophiques ainsi qu'en inhibant les voies apoptotiques (Matarredona *et al.*, 2001; Roceri *et al.*, 2001).

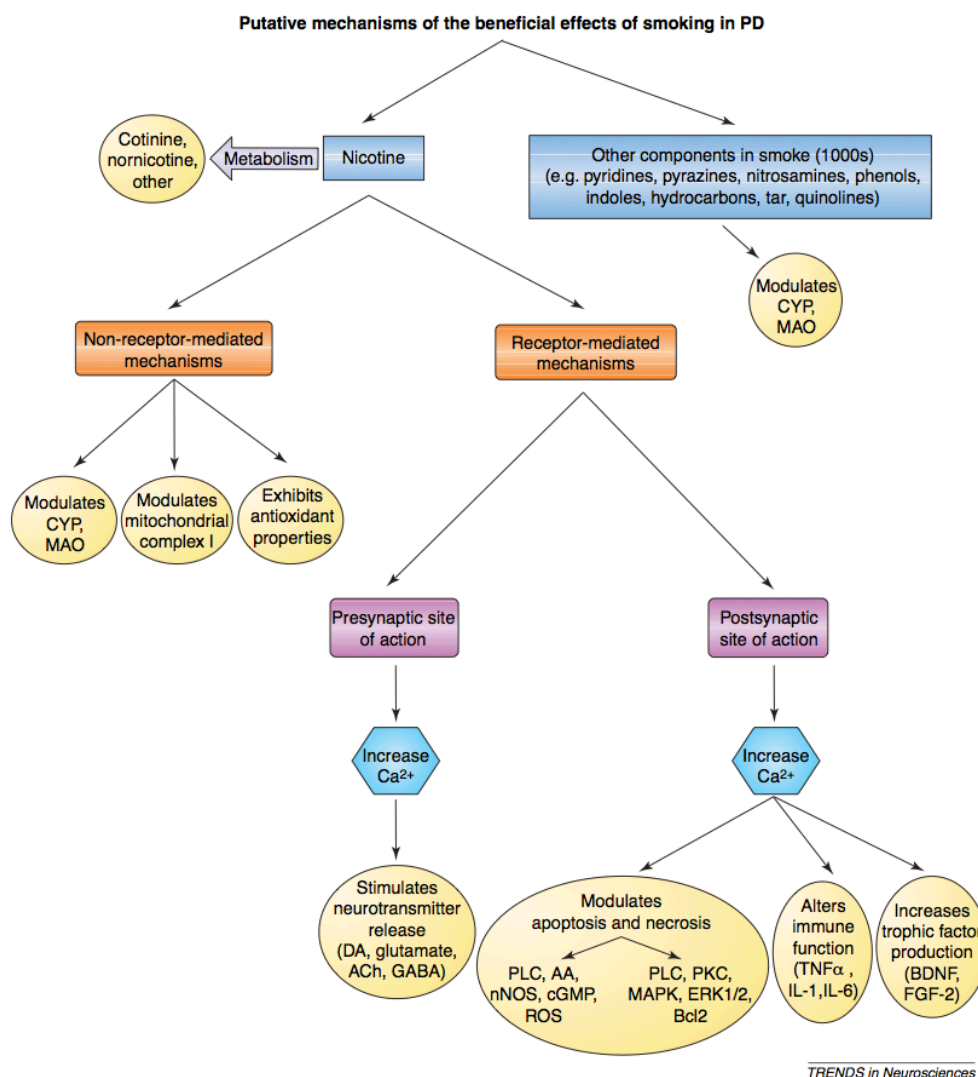


Figure 26: Mécanismes potentiels par lesquels la consommation de cigarette résulte en un effet bénéfique pour la maladie de Parkinson. AA : acide arachidonique, BDNF : brain derived neurotrophic factor, ERK : extracellular-signal-regulated protein kinase, FGF-2 : facteur de croissance des fibroblastes 2, IL : interleukine, MAPK : mitogen-activated protein kinase, nNOS : oxyde nitrique synthase neuronale, PKC : protéine kinase C, PLC : phospholipase C, ROS : espèces réactives de l'oxygène, TNFα : facteur de nécrose tumorale α. Extrait de Quick et al., 2004.

La nicotine joue aussi un rôle antioxydant (Obata et al., 2002; Soto-Otero et al., 2002), augmente le métabolisme toxique par activation d'enzyme de la famille des cytochromes P450 (Miksys et al., 2000; Howard et al., 2003). Ces actions sont liées à la nicotine mais pas nécessairement directement. En effet, des métabolites de la nicotine : la cotinine et la nornicotine, ont des actions protectrices sur les cellules ou les agrégats protéiques (O'Neill et al., 2002; Dickerson and Janda, 2003).

Les auteurs de la revue rappellent que les rapports sur l'effet de la nicotine sur le parkinsonisme chez l'homme ne vont pas tous dans le même sens, reliant cela à l'utilisation de la nicotine elle-même. Les récepteurs nicotiniques sont ubiquitaires, mêmes si ils sont plus présents dans certaines régions, les auteurs suggèrent que

l'utilisation d'agonistes plus spécifiques de certains sous-types de récepteurs nicotiniques serait alors à privilégier. Ils relèvent aussi la présence dans la fumée de cigarette d'autres agents ayant un effet neuroprotecteur, tel que le 2,3,6-triméthyl-1,4-napthoquinone. Cette molécule inhibe la monoamine oxydase B et réduit la neurotoxicité chez la souris (Castagnoli and Murugesan, 2004). Dans une revue plus récente (Quick 2012) on peut voir que peu d'évolutions ont été apportés dans ce domaine, les essais cliniques sont pour la plupart en cours ou n'ont pas de résultat publié pour le moment.

À la vue des mécanismes suggérés, qui impliquent fortement la signalisation calcique ainsi que des marqueurs de l'inflammation, on se dit qu'il est possible d'y voir là la différence de l'effet entre les sujets âgés et les sujets jeunes observé dans l'étude de Tzourio et al (1997). En effet nous avons vu que la régulation calcique et les voies de signalisation de l'inflammation sont perturbées chez les sujets âgés. Alors, la signalisation calcique et l'induction de facteurs inflammatoires par la nicotine pourraient augmenter la perte de balance de l'homéostasie calcique et de l'état d'oxydoréduction vue chez les sujets âgés et expliquer les différences observées.

Un lien entre la consommation de cigarettes et un effet protecteur sur la maladie d'Alzheimer était aussi suggéré dans certaines études. Une revue de la littérature sur les publications étudiant l'association entre la consommation de tabac et la maladie d'Alzheimer (Cataldo *et al.*, 2010) a indiqué la présence d'un biais dans ces recherches. En effet ils ont montré que l'industrie du tabac aurait influencé cette recherche, comme cela a déjà été indiqué par le passé (Bero, 2005). Dans cette revue de la littérature 43 études ont été relevée, dont 26 études de cas-témoins et 17 études prospectives de cohortes. Parmi ces 43 études, les auteurs ont cherché les affiliations entre l'industrie du tabac et les auteurs des études. Les résultats de la méta-analyse indiquent que dans le cas des études cas-témoins, les études sans affiliation donnaient un rapport des chances de 0.91 (IC 95% 0.75-1.10) alors que les études avec affiliation indiquaient un rapport des chances de 0.86 (IC 95% 0.75-0.98). Dans les cas des études prospectives, celles sans affiliation obtenaient un rapport des chances de 1.45 (IC 95% 1.16-1.80) alors que celles avec obtenaient 0.60 (IC 95% 0.27-1.32).

En contrôlant les estimations de la méta-analyse par l'année de publication des cohortes (effet séculaire, les plus récentes indiquant des risques plus élevés), le type d'études (les études cas-témoins sous-évaluant le risque en comparaison des études prospectives), le facteur d'impact du journal de publication (non-significatif) les auteurs de la méta-analyse ont montré que l'affiliation avec l'industrie du tabac influence

significativement les estimations de risques de ces études de -0.37. Finalement, en prenant tous ces facteurs en compte, le rapport des chances de la maladie d'Alzheimer pour les fumeurs était estimé à 1.72. On voit aussi une des faiblesses des études cas-témoins, avec ici une sous-évaluation des risques chez les fumeurs, provenant sûrement de la plus forte mortalité des fumeurs avec Alzheimer que des patients non-fumeurs avec Alzheimer (Sabbagh *et al.*, 2005), baissant la proportion de fumeurs déments et ainsi diminuant le risque associant les deux.

Concernant les effets sur la morphologie cérébrale, nous avons identifié six études dans la littérature qui ont utilisé une méthode d'IRM quantitative pour traiter la question de l'impact de la consommation de tabac sur l'atrophie cérébrale chez le sujet âgé (Enzinger *et al.*, 2005; Ikram *et al.*, 2008; Debette *et al.*, 2011; Das *et al.*, 2012; Durazzo *et al.*, 2012; Hoogendam *et al.*, 2012 ; Table 7). Avant de décrire les résultats de ces études, nous pensons qu'il est intéressant de lister les différences et similarités existantes entre les méthodologies implémentées dans ces études.

A. Méthodologies des études de cohortes relatant les effets du tabagisme sur le vieillissement cérébral mesuré par IRM

a- Cohortes.

Deux études (Durazzo *et al.*, 2012 ; Enzinger *et al.*, 2005) comportent la double approche (transversale et longitudinale), quoique sur de plus petits échantillons (N=186 dont 144 avec un suivi à deux ans, N=201 à l'entrée et au suivi, respectivement) ; trois autres étaient purement transversales (Hoogendam *et al.*, 2012 ; Ikram *et al.*, 2008 ; Das *et al.*, 2012 ; N=3952, 490 et 315 respectivement) et une ne rapporta que des données longitudinales (Debette *et al.*, 2011 ; N=1352, suivi de 6 ans). Au regard de l'âge moyen, les échantillons sont composés de sujets âgés [60-76].

b- Paramètres de la consommation de tabac.

Les auteurs de ces études précédentes ont utilisé des catégories similaires pour décrire le statut de leurs participants au regard de leur consommation de tabac, à savoir non-fumeur, ancien fumeur ou fumeur actif à l'entrée dans l'étude. Dans certaines, les anciens fumeurs ont été groupés soit avec les fumeurs actifs (Durazzo *et al.*, 2012 ; Enzinger *et al.*, 2005 ; Das *et al.*, 2012) soit avec les non-fumeurs (Debette *et al.*, 2011). Sachant cela, il est important de noter que le nombre de fumeurs actuels dans l'étude de Durazzo *et al.*

(2012) était extrêmement faible (5 pour être comparés à 58 anciens fumeurs), donc les résultats de cette étude concerne les anciens fumeurs ce qui la rend difficilement comparable avec les résultats de l'étude par Debette *et al.* (2011) qui a établi un échantillon de 197 fumeurs actifs. Dans l'étude de Das *et al.* (2012) n'est pas précisée la proportion d'anciens fumeurs dans leur catégorie fumeurs. De plus, les études précédentes ne contiennent pas de détails sur la consommation de tabac de leur échantillon, tels que la durée ou la quantité de tabac consommé (paquets-années), ou la date à laquelle les anciens fumeurs ont cessé de consommer des cigarettes. En réalité, seuls les auteurs de deux études (Durazzo *et al.*, 2012 ; Das *et al.*, 2012) ont tenté de tester un effet dose-dépendant entre l'atrophie cérébrale et la durée totale de consommation (Durazzo *et al.*, 2012 ; Das *et al.*, 2012) ou la variable paquets-années (Das *et al.*, 2012).

c- Phénotypes cérébraux

En plus du volume du cerveau entier, les effets de la consommation de tabac sur les volumes de substance grise et de substance blanche ont été analysés dans une étude précédente (Ikram *et al.*, 2008), alors que d'autres ont préféré étudier l'atrophie soit du cerveau entier (Debette *et al.*, 2011 ; Hoogendam *et al.*, 2012 ; Enzinger *et al.*, 2005 ; Das *et al.*, 2012) soit d'un panel de régions *ad hoc* (Durazzo *et al.*, 2012 ; Das *et al.*, 2012). Il existe plusieurs raisons pour lesquelles les volumes de SG et de SB devraient être étudiés séparément. La première est que leurs dynamiques au cours de la vie sont très différentes (Good *et al.*, 2001; Abe *et al.*, 2010), et certains ont suggéré que leurs vitesses d'atrophie différaient durant le vieillissement (Smith *et al.*, 2007). La seconde est que leur contenu cellulaire et vasculaire est très différent et on ne peut a priori exclure des effets différentiels de la consommation de tabac sur ces deux tissus. Finalement, les fractions de SG et de SB sont connues pour être différentes entre les hommes et les femmes (Allen *et al.*, 2003; Lemaître *et al.*, 2005b; Leonard *et al.*, 2008), ce qui appelle aussi à une analyse séparée.

En plus des volumes de CE, SG et SB, le volume de l'hippocampe (qui est une cible du vieillissement) a aussi été analysé par Durazzo *et al.* (2012) et Debette *et al.* (2011), les auteurs de cette dernière étude ayant utilisé le volume de liquide céphalorachidien des cornes temporales, marqueur de substitution du volume hippocampique. Dans l'étude de Das *et al.* (2012) sont inclus les ganglions de la base du fait de leur rôle dans les circuits de récompense et de renforcement impliqués dans les addictions mais aussi pour leur haut contenu en récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine.

d- Prise en compte des effets du sexe

Nous pensons que la ségrégation des analyses par le sexe est souhaitable pour les études traitant de l'atrophie cérébrale à cause des effets potentiels de confusion du sexe, entre autres dus aux différences entre les hommes et les femmes quand aux paramètres de style de vie, incluant le tabac, et de santé (voir CH2.II.1). De telles différences ont en effet été rapportées par d'autres comme ayant un effet spécifique au sexe sur l'atrophie cérébrale chez des sujets âgés sains (Franke *et al.*, 2014). Dans les études précédentes, une ne comporte aucune mention d'un effet sexe (Enzinger *et al.*, 2005), dans d'autres le sexe est inclus comme variable de confusion sans inclure l'analyse d'un effet sexe dans les effets du tabac (Debette *et al.*, 2011 ; Durazzo *et al.*, 2012, Hoogendam *et al.*, 2012, Das *et al.*, 2012) et les auteurs d'une ont mentionné avoir testé l'interaction entre le sexe et le statut fumeur mais n'en ont pas rapporté les résultats (Ikram *et al.*, 2008). En fait, dans la littérature, nous n'avons trouvé qu'une étude dans laquelle sont rapportés des effets du tabac séparément pour chaque sexe, mais les résultats étaient estimés sur des évaluations visuelles de l'atrophie (Longstreth Jr. *et al.*, 2000).

B. Synthèse des résultats des études de cohortes relatant les effets du tabagisme sur le vieillissement cérébral mesuré par IRM

Les différences dans l'approche méthodologique de l'influence de la consommation de tabac sur l'atrophie cérébrale ont bien entendu des conséquences sur les résultats observés dans les différentes études citées (voir Table 7).

Concernant les études transversales, les auteurs ont tous observé un volume de CE (SG+SB) réduit chez les fumeurs à l'entrée dans l'étude sauf ceux de l'étude de Enzinger *et al.* (2005), sûrement par manque de puissance statistique ou en lien avec le traitement des images. En effet, les auteurs ont indiqué avoir des changements cérébraux de taille similaire aux erreurs standard associées lors du suivi à trois ans. L'étude de Durazzo *et al.* (2012) ne comprenait pas le volume cérébral total dans ses analyses. Dans l'étude d'Ikram *et al.* (2008), la seule comprenant les volumes de SG et de SB, ces derniers n'étaient pas significativement associés à la consommation de tabac, les auteurs indiquant juste qu'à la vue des estimations obtenues, l'effet observé pour le volume de CE semblait plus lié à la SB qu'à la SG. Concernant les régions d'intérêt, seule dans l'étude de Durazzo *et al.* (2012) est inclus l'hippocampe sans rapporter d'effet de la consommation de tabac. Ils ont aussi inclus des régions associées au système de renforcement et de récompense, ainsi que des régions liées à la maladie d'Alzheimer. Seule une corrélation négative entre la durée de

consommation et le volume du *gyrus* frontal supérieur est rapportée. L'étude de Das *et al.* (2012) est la seconde à comporter des régions d'intérêt : les ganglions de la base avec les noyaux accumbens et caudé ainsi que le putamen.

Les auteurs n'ont pas trouvé de différences significatives entre les groupes de fumeurs et de non-fumeurs. Néanmoins, ils ont rapporté des régressions significatives avec l'âge de début de la consommation de cigarette ou les paquets-années. Elles indiquaient que le putamen était positivement associée aux paquets-années et négativement à l'âge de début de la consommation, ainsi qu'une association négative entre le volume du noyau accumbens et la variable paquets-années. Les auteurs associent les deux effets avec l'addiction à la nicotine. Ainsi, un volume plus important du putamen pouvant indiquer une propension à l'addiction plus importante (induisant une consommation plus importante) ou un effet neuroprotecteur de la nicotine sur l'atrophie du putamen. Ce dernier point est d'ailleurs contesté par les résultats d'une autre étude (García-Montes *et al.*, 2012) chez le rat dont les conclusions suggèrent que la nicotine n'a pas particulièrement d'effet neuroprotecteur. Néanmoins, des observations d'amélioration des symptômes moteurs associée à la maladie de Parkinson par un agoniste nicotinique chez le singe (Schneider *et al.*, 1998) ainsi que l'observation d'une association positive entre le volume du putamen et la vitesse de marche chez les sujets âgés (Dumurgier *et al.*, 2012) pourraient aller dans le sens de ces résultats. Pour l'association négative avec le volume du noyau accumbens, les auteurs mettent cela en lien avec l'observation que fumer induit une augmentation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens (Brody *et al.*, 2004b). Néanmoins dans cette étude, l'observation concerne à la fois le noyau accumbens, le noyau caudé et le putamen alors que les résultats rapportés sont différents pour ces trois régions dans l'étude de Das. Il est probable que la méthode de segmentation utilisée soit en partie responsable des différences de résultats pour ces régions. En effet, la segmentation utilisée est celle implémentée dans FreeSurfer qui a été réalisée avec des sujets jeunes (Fischl *et al.*, 2002, 2004). Or, avec l'atrophie cérébrale non négligeable entre des sujets jeunes et des sujets âgés tels que ceux utilisés dans l'étude de Das *et al.* (2012), il peut y avoir un déplacement des structures proches des ventricules latéraux, tels que les noyaux gris centraux. Cela induirait une mauvaise segmentation et donc une mauvaise estimation des volumes de ces structures.

Référence (cohorte)	Type (N, délai)	Âge	Statuts tabac	Phénotypes cérébraux	Résultats principaux
Debette 2011 (Framingham)	Long (1,352, 6.3 ans)	61	nF+aF: 1,155 (85%) Fa: 197 (15%)	SG+SB Volume cornes temporales	cS: augmentation de la perte annuelle (resp. gain) de SG+SB (resp. volume des cornes temporales)
Durazzo 2012 (ADNI)	Trans (186)	76	nF: 118 (63%) aF: 63 (34%) Fa: 5 (3%)	BREOS ⁴ & régions intérêt AD	cS+fS: plus petit GFS lié à la durée de consommation
	Long (144, 2 ans)		nF: 92 (64%) aF+Fa: 52 (46%)	BREOS & régions d'intérêt AD, SG globale	cS+fS: plus grande atrophie pour les régions sélectionnées, mais pas pour SG global; plus grande atrophie pour GFS liée à la durée de consommation.
Enzinger 2005 (ASPS)	Trans (201)	60	nF: 122 (61%) aF+Fa: 79 (39%)	SG+SB (en %VTI)	Pas d'effet du tabac
	Long (201, 6 ans)				Pas d'effet du tabac
Hoogendam 2012 (Rotterdam)	Trans (3,962)	60	nF: 1,154 (29%) aF: 2,076 (53%) Fa: 709 (18%)	SG+SB	Réduction du volume SG+SB chez les cS mais pas les fS
Ikram 2008 (Rotterdam)	Trans (563)	73	nF: 211 (27%) aF: 265 (54%) Fa: 87 (18%)	SG, SB, SG+SB	Réduction du volume SG+SB chez les cS mais pas les fS
Das 2012 (PATH thought life project)	Trans (315)	67	nF: 192 (61%) aF+Fa:123 (39%)	SG+SB, LCR _v , CAU, PUT et NAc	Réduction du volume SG+SB avec augmentation LCR _v chez les fumeurs. Corrélation (paquets-années) positive pour LCR _v et PUT et négative pour NAc.

Table 7 : Principales caractéristiques et résultats des études quantitatives en IRM antérieures sur les effets liés au tabac sur l'atrophie cérébrale. Type : design de l'étude (trans= transversale ; long= longitudinale), taille de l'échantillon (N) et délai entre les deux examens IRM (pour les études longitudinales, en années). Âge : âge moyen des participants à la première IRM. Statuts fumeur : nS = non-fumeurs, fS = anciens fumeurs, cS = fumeurs actuels. Phénotypes cérébraux : SG = substance grise, SB = substance blanche, LCR_v : liquide céphalo-rachidien ventriculaire, BREOS : régions de supervision du système de récompense (brain reward executive oversight system), AD : Maladie d'Alzheimer, GFS : gyrus frontal supérieur, CAU : noyau caudé, PUT : putamen et NAc : noyau accumbens.

Concernant les études longitudinales, deux des trois études (Enzinger *et al.*, 2005 ; Debette *et al.*, 2011) contiennent une analyse de la vitesse d'atrophie du cerveau entier

⁴ BREOS (Brain Reward/Executive Oversight System) : ensemble de régions incluant : le cortex préfrontal dorsolatéral, le cortex orbitofrontal, l'insula, le cortex cingulaire antérieur, l'amygdale, l'hippocampe, le striatum et d'autres régions frontales.

(SG+SB). Enzinger *et al.* (2005) n'ont pas rapporté d'effet chez les fumeurs alors que Debette *et al.* (2011) ont indiqué une accélération de l'atrophie chez les fumeurs actuels. Dans l'étude d'Enzinger *et al.* (2005), les problèmes cités par rapport aux résultats transversaux sont ici aussi susceptibles d'expliquer l'absence d'association. Concernant les volumes de SG et de SB, une seule étude a analysé le taux d'atrophie de SG globale uniquement, il s'agit de celle de Durazzo *et al.* (2012). Les auteurs n'ont pas rapporté de différence de vitesse d'atrophie entre les fumeurs (anciens et actifs) et les non-fumeurs pour la SG globale. Par contre ils ont indiqué des différences pour les régions d'intérêt incluses dans leur étude, avec une atrophie accélérée chez les fumeurs (en rappelant que ce groupe est très majoritairement composé d'anciens fumeurs). Aucune étude à notre connaissance ne contient une analyse du volume global de substance blanche. Concernant l'hippocampe nous n'avons relevé que deux études rapportant une vitesse d'atrophie plus importante chez les fumeurs actifs : celle de Debette *et al.* (2011) qui utilise le volume de LCR des cornes temporales comme marqueur de l'atrophie de l'hippocampe et une étude non-incluse dans la Table 7 (Durazzo *et al.*, 2013) qui elle a directement étudié le volume de l'hippocampe. Pour ces deux études, l'effet était observé dans un groupe de fumeurs actifs par rapport au groupe de non-fumeurs.

En résumé nous pouvons voir que les volumes globaux sont trouvés réduits ou avec une atrophie plus rapide dans certaines études (Ikram *et al.*, 2008 ; Debette *et al.*, 2011 ; Hoogendam *et al.*, 2012) quand d'autres n'ont pas trouvé de telles associations (Enzinger *et al.*, 2005 ; Durazzo *et al.*, 2012). Quand aux régions d'intérêt peu d'études les ont prises en compte et de plus, pour celles qui l'ont fait, les résultats ne sont pas concordants.

III. EFFETS DE CERTAINS FACTEURS DE RISQUE SUR LE VIEILLISSEMENT NEUROANATOMIQUE

Nous avons vu que le vieillissement cérébral se caractérise par d'importants changements morphologiques. La consommation de tabac n'est pas le seul facteur de risque modifiant les volumes cérébraux, et de nombreuses études se sont attachées à étudier l'impact de facteurs biologiques, génétiques, sociologiques ou démographiques sur ces volumes au cours du vieillissement.

Les études précédentes dans le laboratoire concernant le sujet âgé ont permis de quantifier l'impact de certains facteurs, tels qu'un effet sexe dans l'étude de Lemaître *et al.* (2005b) avec une atrophie plus rapide chez les femmes. Ceci avait soulevé la question du traitement hormonal substitutif et de son effet sur le déclin neuro-anatomique, travail traité durant la thèse de Blandine Grassiot. Un deuxième travail (Lemaître *et al.*, 2005a) a montré une absence d'effet dose-dépendant du nombre d'allèle e4 de l'apolipoprotéine E chez des sujets sains, contrairement à ce qui est observé cliniquement chez les patients atteints d'Alzheimer.

1. LE SEXE

L'impact du sexe sur les volumes cérébraux et leur atrophie est à prendre en compte dans les études de neuroimagerie. En effets, les hommes et les femmes présentent des différences sur beaucoup de variables, dépendantes ou indépendantes comme nous le verrons dans la description de l'échantillon utilisé dans cette thèse.

A. Phénotypes cérébraux

Les variables indépendantes des études de neuroimagerie sont bien entendu les phénotypes cérébraux utilisés dans l'étude. Un travail récent (Barnes *et al.*, 2010) s'est attaché à étudier l'influence du sexe, indépendamment de l'âge et du VTI, en fonction du phénotype étudié. Ils ont ainsi regardé l'effet du sexe sur la volumétrie cérébrale, la densité tissulaire et l'épaisseur corticale. Après ajustement pour l'âge et le VTI, les hommes avaient de plus petits volumes de CE et de SB (avec d'autres différences non

significatives, c'est à dire de plus petits volume de SG, d'hippocampe et d'amygdale). L'épaisseur corticale et la partie VBM de l'étude ont révélé des différences dues au sexe (épaisseur corticale supérieure et densité en VBM plus faible chez la femme) mais non significatives.

D'autres auteurs d'études transversales antérieures avaient aussi cherché des différences dans les phénotypes cérébraux entre hommes et femmes. Ainsi, des auteurs (Gur *et al.*, 1991) ont montré une augmentation de CSF plus importante chez les hommes âgés comparés aux femmes, ainsi qu'une atrophie avec l'âge plus importante de l'hémisphère gauche chez les hommes âgés dans une interaction âge*sexe*hémisphères. Resnick *et al.* (2000) indiquent qu'ils n'ont pas d'interaction âge/sexe sur les volumes considérés. Les résultats d'une étude réalisée au laboratoire (Lemaître *et al.*, 2005b) ont rapporté des fractions de SG et SB sur le VTI différentes, c'est à dire une fraction de SG plus importante chez les femmes et de SB chez les hommes ; conséquemment nous avons la fraction SG/SB plus importante chez les femmes (1.25 vs. 1.18 chez les hommes) mais aucune interaction âge*sexe. Une étude de l'épaisseur corticale (Salat *et al.*, 2004) n'a montré aucune différence entre les sexes sur l'épaisseur corticale ou l'effet de l'âge sur l'épaisseur corticale, seulement une tendance à une épaisseur plus importante chez les hommes dans les deux hémisphères.

Good *et al.*, 2001 a montré une atrophie de SB plus importante chez l'homme, effet disparaissant en considérant la SB en pourcentage du VTI, avec aucune différence pour le LCR ou la SB. Les auteurs d'une étude longitudinale (Ge *et al.*, 2002) n'ont pas trouvé de différences dans les fractions de SG ou de SB entre les hommes et les femmes, pas plus qu'entre les vitesses d'atrophie de ces tissus.

Nous voyons au travers de ces différentes études l'extrême variabilité des résultats, qui varient en fonction de la population étudiée (âge, cohorte, etc.) mais aussi des méthodes d'analyse. Le résultat qui semble le plus constant dans la littérature est la plus grande fraction SG/SB chez les femmes. Nous allons voir que, particulièrement dans les études sur le vieillissement cérébral, les différences entre les sexes sur les phénotypes cérébraux ne sont pas les seules à devoir être contrôlées.

B. Covariables

a- Biologiques

Les études concernant le vieillissement cérébral concernent, généralement, les sujets âgés de plus de 65 ans. Si les différences entre les hommes et les femmes tendent à se réduire lorsque l'on considère les modes de vies, les différences dans les prévalences des maladies liées à l'âge ainsi que dans la distribution des facteurs de risque associés restent majeures, particulièrement pour les maladies cardiovasculaires (Mosca *et al.*, 2011). En effet parmi les facteurs de risques cardiovasculaires, beaucoup ont été montrés comme étant liés à une augmentation du vieillissement cérébral : l'hypertension (Debette *et al.*, 2011; Maillard *et al.*, 2012; Franke *et al.*, 2014), l'obésité (Debette *et al.*, 2011, 2014; Franke *et al.*, 2014), l'hypercholestérolémie (Tendolkar *et al.*, 2012; Franke *et al.*, 2014), le diabète (Cherbuin *et al.*, 2012; Franke *et al.*, 2014), la consommation de tabac (Enzinger *et al.*, 2005; Ikram *et al.*, 2008; Debette *et al.*, 2011; Durazzo *et al.*, 2012; Hoogendam *et al.*, 2012) et d'autres. Nous reviendrons sur les effets de ces facteurs sur la neuro-anatomie individuellement par la suite.

Sur les 10 études citées ci-dessus, seule deux (Franke *et al.*, 2014 ; Ikram 2008) indiquent les comparaisons entre les hommes et les femmes pour les covariables incluses dans les analyses. Or dans ces deux études, nous voyons que les deux sexes diffèrent significativement sur 14 des 25 paramètres inclus. Sans suggérer que ces différences sont systématiques dans les études sur le vieillissement neuro-anatomique, il est important que ces facteurs soient vérifiés et contrôlés statistiquement afin de prendre en compte ces différences. Ce sont majoritairement des études sur l'incidence et le risque de développement de la maladie d'Alzheimer qui pointent ces différences, en lien avec l'observation d'une prévalence supérieure et d'une diminution du risque (liée au contrôle des facteurs de risque) moindre chez les femmes par rapport aux hommes (Mielke *et al.*, 2014). Deux aspects restent à développer, les polymorphismes génétiques et la cognition.

b- Génétiques

Le nombre d'études d'associations pangénomiques est en plein essor, facilité par les consortiums permettant la mise en commun des données standardisées afin d'atteindre la puissance statistique nécessaire, si on considère le nombre de tests réalisés dans ces études. Certaines auteurs ont alors pu chercher des différences entre les sexes pour les associations des polymorphismes génétiques avec la maladie d'Alzheimer. Ainsi, le

polymorphisme Val66Met a été rapporté comme accroissant le risque de développer Alzheimer chez les femmes, mais pas chez les hommes (Fukumoto *et al.*, 2010). L'inverse a été trouvé (risque accru chez les hommes mais pas chez les femmes) pour les SNPs (*Single Nucleotid Polymorphism*, polymorphisme mono-nucléotidique) rs688 (proche d'un exon du gène d'un récepteur des protéines ApoE), rs17571 (cathepsine D, protéase lysosomale ; Albayrak *et al.*, 2010) ainsi que deux autres concernant les gènes des protéines SOS2 et PCK1 (Hamilton *et al.*, 2007). D'autres polymorphismes ont été rapportés comme présentant des effets opposés entre les deux sexes, comme le SNP 65 de l'allèle G du récepteur γ activé par les proliférateurs de peroxyssomes (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma*, PPAR γ) qui augmente le risque d'Alzheimer chez les hommes et le diminue chez les femmes, étant non associé dans l'analyse non stratifiée (Hamilton *et al.*, 2007). Les origines de ces différences ne sont pas établies, la route menant entre les variations mono-nucléotidiques et leurs effets physiologiques associés étant très longue et pavée d'embûches (les interactions entre gènes, leurs régulations jusqu'à la synthèse de la protéine, l'action de la protéine et son interaction avec son environnement). Cependant l'analyse séparée des sexes pour les polymorphismes génétiques semblent devoir être à considérer, si non systématiquement du moins lorsque l'incidence, la prévalence, l'évolution ou la réponse au traitement de la maladie (ou trait) étudiée diffère(nt) entre les sexes dans la littérature.

c- Cognitives

Ce n'est pas directement une covariable, mais la cognition est intégrée dans certaines études *via* des covariables telles que le MMSE (*Mini-Mental State Examination*) attestant d'une capacité cognitive globale de l'individu, la dépression (selon différents examens et scores) et le niveau d'éducation. L'activité cognitive soutenue au long de la vie a été associée à une préservation, ou déclin sensiblement plus lent de ces capacités cognitives chez l'individu âgé, nommée la réserve cognitive. Le corrélat morphologique de cette réserve cognitive n'est pas clairement établi, certains arguant une préservation des volumes liée à la préservation des capacités, d'autres arguant une optimisation des réseaux neuronaux liés à ces capacités cognitives supportant leur préservation dans le temps. Cette deuxième théorie, associée à une diminution du volume de SG, de SB ou de l'épaisseur corticale (Coffey *et al.*, 1999; Longstreth Jr. *et al.*, 2000; Pillai *et al.*, 2012) va de pair avec la théorie économique de l'organisation des réseaux neuronaux (Bullmore and Sporns, 2012). Cette théorie tente d'expliquer que l'organisation de ces réseaux est un compromis entre fonction et coût (voir Figure 24). Le cerveau est un organe représentant

2% de la masse totale du corps et qui consomme 20% de l'oxygène et du glucose (Clark and Sokoloff, 1999).

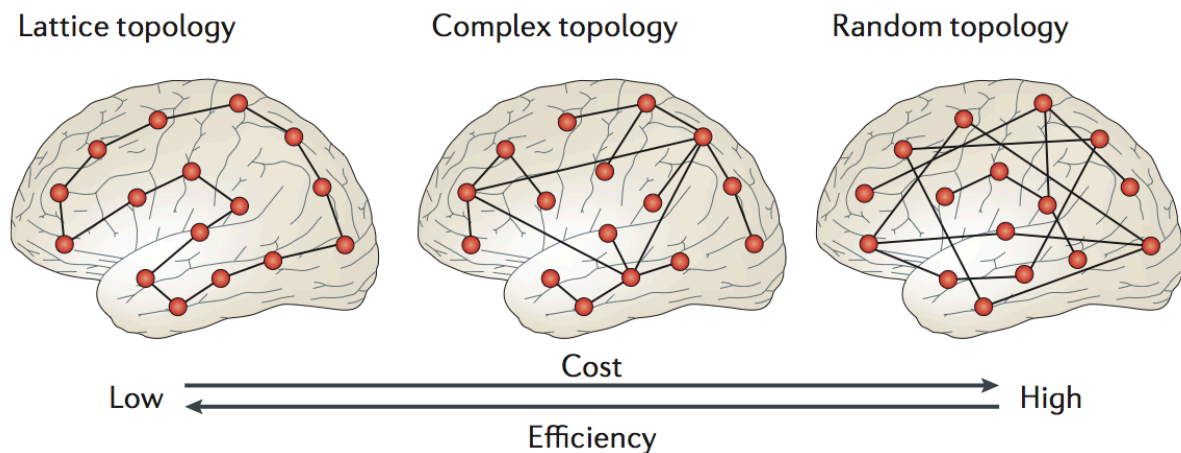


Figure 24: Représentation des différentes topologies et intégrations spatiales des réseaux neuronaux en graphs. Extrait de Bullmore and Sporn 2012.

La topologie des réseaux serait alors un intermédiaire entre connexions courtes (faible coût) et interconnexion extrême (aléatoire) permettant une communication importante entre les différentes régions cérébrales et permettant ainsi une intégration cognitive supérieure. L'idée est qu'une activité cognitive soutenue durant la vie permet un renforcement, et une intégrité prolongée des réseaux au cours de la vie. Ainsi, plusieurs auteurs ont montré que les sujets atteints de la maladie d'Alzheimer avec un haut niveau d'éducation ou un haut niveau d'activité (intellectuelle, sociale ou même physique) avaient, à performances cognitives égales, des signes de vieillissement cérébral plus importants tels qu'une réduction du flux sanguin cérébral (Scarmeas *et al.*, 2003), un métabolisme glucidique réduit (Garibotto *et al.*, 2008) ou une augmentation de fixation d'un ligand des plaques amyloïdes bêta (Kemppainen *et al.*, 2008).

La différence entre les hommes et les femmes nés en 1950 ou avant se situe donc dans la constitution supposée de cette réserve cognitive. Plus l'activité cognitive est riche et variée, dans le travail, les relations sociales ou les activités de loisir, plus la personne est susceptible de conserver et de faire face au vieillissement cérébral. Les hommes étaient bien plus couramment engagés dans les études, longues ou non, et les femmes engagées dans la gestion du foyer familial. La rupture dans ces modes de vie, avec aujourd'hui des niveaux d'éducation très similaires dans les deux sexes dans les pays développés, s'est principalement faite après le milieu du XXème siècle. En France par exemple les femmes ont obtenu : la capacité civile en 1938 (jusque là, les femmes avaient

« devoir d'obéissance » envers leur mari, décisionnaire universel) le droit de vote en 1944, le droit d'exercer un travail salarié sans l'accord de leur mari en 1965, l'autorité parentale en 1970 ou encore le droit à la gestion des biens de la famille en 1984. Ces avancées sociales, qui ont largement modifié le style de vie des femmes, font que ces différences s'atténuent aujourd'hui dans les cohortes chez le sujet âgé. Mais au-delà de la seule éducation, ces différences se répercutaient sur l'activité cognitive (intellectuelle, sociale, etc.) et donc possiblement sur le vieillissement cérébral.

C. Conclusion

On peut donc voir que les différences entre hommes et femmes touchent beaucoup de covariables utilisées en neuro-anatomie. La conséquence serait de contrôler systématiquement pour ces différences si elles existent dans la cohorte utilisée, en plus des contrôles de différences entre, par exemple, les cas et les témoins. Ceci amène la question de la puissance statistique, car si les deux sexes doivent être analysés séparément, le risque est de se retrouver avec une cohorte de taille insuffisante pour détecter des associations statistiques.

2. L'HYPERTENSION

Le maintien de la tension artérielle est un paramètre capital pour l'apport continu en métabolites (oxygène, glucose, etc.) au cerveau. Une pression artérielle trop faible résulte en un apport insuffisant (malaise vagal par exemple) alors qu'une pression artérielle trop forte peut fragiliser les artères et à terme provoquer leur rupture. L'hypertension est ainsi considérée comme le premier facteur de risque d'accidents vasculaires cérébraux (Sander, 2004).

De nombreux auteurs d'études transversales en IRM chez le sujet âgé se sont intéressés à l'effet de l'hypertension sur l'apparition d'hyperintensités de la substance blanche (HSB). Dans une étude de suivi longitudinal de la pression sanguine associée à des images IRMs transversales (van Dijk, 2004), l'auteur a montré qu'une augmentation de pression systolique était associée à une augmentation du risque de HSB alors que, pour la pression diastolique, l'augmentation ou la diminution étaient toutes les deux associées à une augmentation du risque. Dans une autre étude (Godin *et al.*, 2009), réalisée sur la même cohorte que celle utilisée dans les études de cette thèse (Étude Trois Cités), les auteurs ont montré que les sujets hypertendus présentaient un volume d'HSB plus

important que les sujets normo-tendus sans qu'il y ait de lien avec les volumes de SB, CSF ou d'HIP. Les résultats d'une autre étude (Debette *et al.*, 2011) étaient similaires, à savoir une augmentation du gain de volume de HSB chez les hypertendus, sans association avec la vitesse de changement du volume de CE. Dans une étude récente (Maillard *et al.*, 2012) sur des adultes jeunes, les auteurs ont indiqué une absence de lien avec les HSB, suggérant que l'effet prend place entre leur tranche d'âge (≈ 40 ans) et celle des sujets âgés (>65 ans).

Dans les études transversales incluant les volumes cérébraux, des auteurs (VBM ; Taki *et al.*, 2004) ont rapporté une corrélation négative entre pression sanguine systolique et densité de SB régionale dans le cuneus, les gyri temporal inférieur et frontal médian. Les auteurs d'une autre étude sur les volumes globaux (Ikram *et al.*, 2008) ont montré une association négative de la pression diastolique avec le volume cérébrale entier et le volume de matière blanche (normale ou totale). Les résultats d'une étude récente (Hoogendam *et al.*, 2012) montre une association positive limite entre la pression diastolique et le volume cérébral total. Un résultat similaire a été rapporté dans une étude sur l'épaisseur corticale (van Velsen *et al.*, 2013), indiquant une épaisseur qui augmente en global et pour le lobe frontal supérieure lorsqu'il y a augmentation de la pression diastolique. Avec une étude stratifiée pour le sexe (Cherbuin *et al.*, 2014) les auteurs ont indiqué que l'association de la pression sanguine moyenne (indice composite entre pressions systolique et diastolique) était positive chez les hommes (volumes de SG et performances cognitives) alors qu'elle était négative chez les femmes (pour les mêmes mesures dépendantes). On pourrait alors imaginer que les différences entre les études précédentes pourraient s'expliquer par le ratio hommes/femmes utilisé, particulièrement pour les études d'Ikram et d'Hoogendam, basées sur des sous-échantillons différents de la même cohorte (Rotterdam Study). Or pour les études de Taki, Ikram, Hoogendam et Van Velsen, le pourcentage de femmes est de 53.4% (association négative), 51.8% (association négative), 54.4% (association positive) et de 52.3% (association positive) respectivement, ce qui n'a pas de cohérence avec les orientations (positive ou négative) des associations de la pression sanguine avec les phénotypes cérébraux dans ces différentes études. En effet, si l'on considère les deux études utilisant la cohorte *Rotterdam Study*, la cohérence avec l'étude de Cherbuin voudrait que l'association dans l'étude de Hoogendam soit plus négative que celle d'Ikram, car comportant un pourcentage de femmes plus élevé (sous-population associée négativement avec la pression sanguine).

On relève aussi des études longitudinales, les auteurs d'une n'ont rapporté aucune association entre l'hypertension et le changement annualisé de volume de cerveau entier (CE, (Enzinger *et al.*, 2005), ni avec le volume du cerveau entier à l'entrée dans l'étude. D'autre auteurs (Raz *et al.*, 2007) rapportent des vitesses d'atrophie plus faibles chez les sujets normo-tendus que chez les sujets hypertendus pour le cortex visuel primaire, le cortex orbito-frontal, le *gyrus* fusiforme ainsi que pour le lobule pariétal inférieur. Dans cette étude, les sujets ne présentaient pas de différences pour le volume de HSB. L'inverse était rapporté dans l'étude de Debette *et al.* (2011), c'est à dire une augmentation d'HSB sans effet sur le volume cérébral chez les sujets hypertendus.

Comme nous pouvons le constater, les hétérogénéités dans les résultats associant l'hypertension avec les phénotypes cérébraux est grande. Les auteurs d'une revue récente de la littérature (Tzourio *et al.*, 2014) ont relevé que la présence ou l'absence d'effet de la pression sanguine sur le risque de démence pouvait dépendre du moment auquel était mesurée la pression sanguine. Ainsi la pression sanguine relevée chez l'adulte d'âge moyen (40-50 ans) serait prédictive de la démence chez le sujet âgé mais pas lorsqu'elle est relevée chez le sujet âgé. Cette revue ne discute pas des résultats des études approchant les phénotypes morphologiques autres que le volume d'HSB. Néanmoins les phénotypes cérébraux étant fortement liés à l'apparition de démences (Miller *et al.*, 1980; Braak and Braak, 1998; den Heijer *et al.*, 2002; Fjell and Walhovd, 2010) et aux HSB (Godin *et al.*, 2009), on peut supposer que l'âge du sujet auquel est mesurée la pression sanguine module aussi son association avec les phénotypes cérébraux chez le sujet âgé. De plus la variabilité de la mesure pose problème. En effet la variabilité entre les mesures de pression sanguine chez un individu à un temps donné ne permet pas de prédire la variabilité à un autre temps chez le même individu (Gordon *et al.*, 1976), nuancant que la mesure reste malgré tout liée au risque de maladies cardio-vasculaires, ajoutant que l'utilisation d'une pression sanguine moyenne améliorerait la prédictibilité, sûrement grâce à la diminution de la variance.

3. LE TRAITEMENT HORMONAL SUBSTITUTIF

Le traitement hormonal de substitution (THS) est destiné à traiter les symptômes associés à la ménopause (bouffées de chaleur, irrégularités menstruelles, etc.), qui sont dus à la diminution de la sécrétion d'œstrogènes.

Dans de nombreuses études réalisées pour expliquer les différences de vitesses d'atrophie entre les hommes et les femmes, les auteurs ont cherché un éventuel effet hormonal sur le vieillissement cérébral. La prise d'un THS, remontant les niveaux sanguins d'œstrogène, a été montré comme ayant une action neuroprotectrice sur la morphologie (Raz *et al.*, 2004b) et la fonction (Resnick *et al.*, 1998) cérébrales. Les résultats d'une étude réalisée au laboratoire (Crivello *et al.*, 2014, en révision) ont montré une réduction de l'atrophie de substance grise chez les femmes ayant pris un traitement hormonal. De plus, des auteurs ont indiqué une réduction des risques de démence chez les femmes prenant le traitement (Tang *et al.*, 1996) depuis plus d'un an, sans que l'effet soit significatif chez celles le prenant depuis moins d'un an.

Or en 2003 et 2004, la *Women Health Initiative* (randomisée en double aveugle) publia quatre études (Rapp *et al.*, 2003; Shumaker *et al.*, 2003, 2004; Espeland *et al.*, 2004) dont les résultats indiquaient l'absence d'effet neuroprotecteur sur la cognition et même une légère augmentation du risque de démence. Certains ont argué que la puissance statistique de l'étude n'était pas suffisante (Naftolin *et al.*, 2004) et ont créé une cohorte spécifique, la *Kronos Early Estrogen Prevention Study* afin d'étudier le phénomène. Néanmoins, l'impact des résultats de la *Women Health Initiative* ne s'est pas fait attendre en conduisant à la réinterprétation des résultats publiés précédemment.

De cette réinterprétation fut mise en avant la théorie de la fenêtre d'intervention post-ménopause (Resnick and Henderson, 2002). L'induction de la substitution hormonale rapidement après l'initiation de la ménopause lui conférerait son rôle neuroprotecteur alors que son induction tardive serait neutre ou aurait des effets délétères (Novella *et al.*, 2012; Daniel, 2013). L'induction tardive du traitement permettrait à des processus pathologiques de prendre place entre le début de la ménopause et le début du traitement, ce que l'induction rapide du traitement empêcherait (voir Daniel JM, 2013 pour une revue, Novella *et al.*, 2012 pour les effets vasculaires, particulièrement sur l'endothélium des vaisseaux sanguins). Un mécanisme a été proposé pour expliquer l'existence de cette fenêtre critique d'intervention. Dans une étude avec des ratte femelles ovariectomisées (Zhang *et al.*, 2011a), les résultats ont montré que l'absence de traitement substitutif induisait une augmentation de l'interaction du récepteur aux œstrogènes alpha avec une protéine intermédiaire induisant son ubiquitinylation puis sa dégradation par le protéosome. L'augmentation de l'interaction entre les deux protéines est inhibée lorsque le traitement substitutif est induit moins de 10 semaines après l'ovariectomie, ce qui n'est pas le cas lorsque ce délai est passé. Derrière cette théorie de la fenêtre d'intervention se

trouve une deuxième théorie la supportant, développée dans une revue de la littérature (Gibbs, 2010). Cette théorie repose sur l'œstrogène comme support de la fonction cholinergique, entre autres dans les ganglions de la base et le cortex préfrontal. On sait que la transmission cholinergique diminue avec l'âge et cela serait accentué par la disparition de la régulation hormonale. Le traitement hormonal substitutif utilisé rapidement pourrait alors diminuer la perte de fonction cholinergique, mais aussi monoaminergique et glutamatergique.

A la vue de ces données, les futures études traitant de ces sujets devront obtenir des données plus complètes sur la prise du traitement hormonal substitutif, une simple variable catégorielle (oui/non) ne semblant pas pouvoir expliquer suffisamment les effets. De plus, les effets semblent aussi dépendre des variants génétiques des récepteurs aux œstrogènes (Ryan *et al.*, 2014), ce qui finit le tableau dépeint ici de ce facteur de risque dont les conséquences sur le vieillissement ne sont pas clairement établies.

4. L'APOLIPOPROTÉINE E

Dans le système nerveux central, l'apolipoprotéine E (ApoE) est une protéine synthétisée principalement par les astrocytes qui participe au transport du cholestérol (ainsi que d'autres lipides). Elle joue un rôle dans la redistribution locale des lipides entre les cellules, influençant des processus tels que l'homéostasie lipidique ou la réparation neuronale. Les variants génétiques les plus communs de cette protéine sont les variants $\epsilon 2$ (ApoE2, Cys112+Cys158), $\epsilon 3$ (ApoE3, Arg112+Cys158) et $\epsilon 4$ (ApoE4, Arg112+Arg158) avec des fréquences alléliques respectives de 7%, 79% et 14%.

Ainsi, il a été montré que la distribution de l'ApoE avant une ischémie cérébrale est limitée aux astrocytes et à leurs prolongements, alors qu'elle devient aussi neuronale après une ischémie, phénomène interprété comme étant une tentative de réparation des dégâts par le cerveau (Horsburgh and Nicoll, 1996).

Le variant ApoE4 s'est trouvé sur le devant de la scène du vieillissement cérébral lorsque plusieurs auteurs ont rapporté une fréquence plus importante de cet allèle chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Strittmatter *et al.*, 1993; Rocchi *et al.*, 2003), alors que des résultats précédents avaient montré sa présence dans les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires (Namba *et al.*, 1991), les deux principales lésions

liées à la maladie d'Alzheimer (Braak *et al.*, 1999), qui sont plus nombreuses chez les sujets porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ comparés aux non-porteurs (Nagy *et al.*, 1995).

L'effet de l'allèle $\epsilon 4$ a été étudié chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer par l'imagerie en résonance magnétique, avec comme sujet d'étude principal l'hippocampe, structure connue pour présenter une atrophie accrue chez ces patients. Ainsi, dès 1995 des auteurs (Lehtovirta *et al.*, 1995) ont montré que le volume de l'hippocampe était lié au nombre d'allèle ApoE4, les homozygotes ayant un volume plus petit que les hétérozygotes, eux-mêmes ayant un volume plus petit que les non-porteurs de cet allèle. Cet effet dose-dépendant a été répliqué dans plusieurs études sur des patients de la maladie d'Alzheimer avec un effet dose dépendant de l'allèle ApoE4 sur le volume de l'hippocampe (Geroldi *et al.*, 1999; Hashimoto *et al.*, 2001) ainsi que sur sa vitesse d'atrophie (Mori *et al.*, 2002). Les auteurs des deux dernières études montrent une association entre le volume/la vitesse d'atrophie de l'hippocampe et le nombre d'allèle ApoE4 chez les même sujets. Néanmoins, dans une étude groupant les malades porteurs de l'allèle ApoE4 en les comparant avec des malades non-porteurs, les auteurs n'ont pas observé d'effet sur le volume de l'hippocampe (Basso *et al.*, 2006).

Chez les sujets sains, cet allèle a alors été considéré comme un facteur de risque génétique principal du vieillissement pathologique. Dans la population normale, le nombre de sujets homozygotes est relativement faible (2% ; Menzel *et al.*, 1983) amenant la plupart des études prospectives étudiant son effet à grouper les porteurs (homozygotes et hétérozygotes) de l'allèle, les comparant aux non-porteurs. Ainsi, des études ont permis de mettre en évidence un volume de l'hippocampe plus faible chez les porteurs (Tohgi *et al.*, 1997) ; certains auteurs indiquant un effet plus prononcé sur l'hippocampe droit (Tohgi *et al.*, 1997; Lind *et al.*, 2006) que sur le gauche. D'autres auteurs se sont intéressé aux volumes globaux, indiquant une réduction (Hafsteinsdottir *et al.*, 2012) ou non (Cherbuin *et al.*, 2008) du volume de SG chez les sujets porteurs par rapport aux sujets non-porteurs. Finalement, dans une étude utilisant les approches transversale et longitudinale les auteurs ont trouvé qu'il n'y avait pas de différence entre les sujets porteurs et non-porteurs à l'entrée dans l'étude, alors que la vitesse d'atrophie de l'hippocampe était plus importante chez les porteurs dans l'analyse longitudinale (Moffat *et al.*, 2000). Cette dichotomie entre les deux types d'analyses a été retrouvée dans une autre étude (Cohen *et al.*, 2001).

D'autres auteurs ont étudié l'effet en séparant les sujets homozygotes et hétérozygotes. Ainsi, Plassman *et al.* (1997) ont montré une réduction du volume de l'hippocampe chez les sujets homozygotes comparés aux non-porteurs, ce qui n'a pas été confirmé dans une étude concomitante (Reiman *et al.*, 1998) ; ceci peut s'expliquer par la tranche d'âge utilisée dans la seconde étude (50-62 ans). Cela est d'ailleurs supporté par l'absence d'effet sur les structures cérébrales rapportée chez des sujets jeunes (Sidiropoulos *et al.*, 2011) ou d'âge moyen (Cherbuin *et al.*, 2008). Dans deux études du laboratoire (Lemaître *et al.*, 2005a; Crivello *et al.*, 2010) les auteurs ont comparé les trois groupes de sujets, la première indiquant un volume moindre et la seconde une vitesse d'atrophie accrue pour l'hippocampe chez les sujets homozygotes comparés aux hétérozygotes et aux non-porteurs. Les auteurs de cette dernière ont par ailleurs souligné une vitesse d'atrophie de SG globale plus importante chez les sujets homozygotes par rapport aux deux autres groupes de sujets.

On peut donc voir que l'effet de l'ApoE4 sur l'hippocampe a été montré comme étant dose-dépendant chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer mais pas chez les sujets sains. Une seule étude a conclu à un effet chez les deux types de participants (Hostage *et al.*, 2013) : une diminution du volume de l'hippocampe chez les sujets AD et MCI liée au nombre d'allèles E4 et une augmentation de ce même volume chez les contrôles (sujets sains), liée cette fois au nombre d'allèles E2.

Peu d'auteurs ont cherché des effets de l'ApoE4 sur les volumes cérébraux globaux. Les auteurs d'une étude (DeCarli *et al.*, 1999) ont mis en évidence un volume du cerveau entier plus faible chez les sujets porteurs que chez les non-porteurs d'au moins un allèle ApoE4. A noter que les résultats de certaines études chez des patients Alzheimer ont indiqué un volume de cerveau entier (Yasuda *et al.*, 1998; Hashimoto *et al.*, 2001) supérieur chez les porteurs d'un allèle E4 avec un effet dose-dépendant.

5. L'ALCOOL

L'effet de l'alcool sur l'atrophie cérébrale a été montré dès 1978 dans une étude utilisant la tomодensitométrie (Carlen *et al.*, 1978) : une atrophie cérébrale accrue disparaissant partiellement après une période d'abstinence. L'effet de l'alcool sur l'atrophie cérébrale a été confirmé en IRM avec une réduction du volume cérébral entier (SG+SB ; Hommer *et al.*, 2001; Mukamal *et al.*, 2001; Pfefferbaum *et al.*, 2001; Anstey *et*

al., 2006) et de l'hippocampe (Harding *et al.*, 1997; Pfefferbaum *et al.*, 2001; Anstey *et al.*, 2006; Demirakca *et al.*, 2011).

La question d'un effet cumulatif au cours de la vie a été abordée et a reçu différentes réponses. Les auteurs d'une première étude (Taki *et al.*, 2006) ont montré une corrélation négative entre la consommation cumulée et, entre autres, le volume total de SG alors que les auteurs d'une étude voxel à voxel plus récente (Sasaki *et al.*, 2009) ont indiqué une absence de lien entre les densités de gris ou de blanc et la consommation d'alcool cumulée. Les résultats d'études chez l'animal ont montré que les effets délétères de la consommation d'alcool survenaient plutôt durant l'intoxication alcoolique ou l'état de manque, soit durant ou juste après une consommation excessive d'alcool (Bühler and Mann, 2011). La réduction volumique cérébrale serait alors induite par une augmentation du stress oxydatif et des protéines pro-inflammatoires provoquant la réduction neuronale (volume ou nombre) (Crew and Nixon, 2009). Les auteurs d'une étude ont souligné que l'effet augmentait avec l'âge (Pfefferbaum *et al.*, 1992), expliquant que chez les personnes âgées, le pic de concentration d'alcool après une dose fixe était plus important que chez des sujets plus jeunes, que l'alcool déshydrogénase perd de l'activité avec l'âge mais que l'effet sur le système nerveux central reste plus important même en contrôlant les analyses statistiques pour la concentration d'alcool dans le sang. L'effet n'étant pas corrélé dans leur étude au nombre d'années d'alcoolisme, les auteurs concluent que l'effet de l'âge sur l'effet de la consommation d'alcool est en lien avec une vulnérabilité plus importante chez le sujet âgé et non avec un effet cumulatif, théorie allant dans le sens de celle émise par Crew and Nixon (2009).

La récupération suivant une période d'abstinence a été confirmée par de nombreuses auteurs au niveau anatomique (Artmann *et al.*, 1981; Schroth *et al.*, 1985; Mann *et al.*, 1989; Muuronen *et al.*, 1989; O'Neill *et al.*, 2001) et cognitif (Fein *et al.*, 2006; Fein and McGillivray, 2007). Contrairement à ce que l'influence de l'âge sur la perte liée à l'alcool pourrait laisser penser, aucun auteur n'a indiqué de récupération plus rapide chez les sujets jeunes par rapport aux sujets âgés. Crew et Nixon ont indiqué que cette récupération semble passer par des mécanismes mimant les mécanismes généraux impliqués dans la croissance cérébrale ainsi que dans la plasticité telle que la neurogénèse, mécanismes plutôt associés au cerveau jeune ou en maturation.

L'effet négatif de la consommation d'alcool sur le volume cérébral n'a pas été trouvé comme étant linéaire par toutes les études. Ainsi, cette relation a été décrite en

forme de J, un plateau légèrement positif associant une consommation modérée d'alcool avec : les capacités cognitives (Launer *et al.*, 1996; Galanis *et al.*, 2000; Leroi *et al.*, 2002), la fraction parenchymale cérébrale (Enzinger *et al.*, 2005) ou le risque de démence (Orgogozo *et al.*, 1997; Ruitenberg *et al.*, 2002). La pente de la courbe devient négative lorsque la consommation d'alcool est importante (selon les études, à partir de 2 à 4 verres par jour). Dans la dernière étude, les auteurs ont spécifié que le type d'alcool consommé n'influe pas sur l'association alors que d'autres (Truelsen *et al.*, 2002) ont indiqué une diminution du risque chez les buveurs de vin (d'occasionnels à journaliers) et une augmentation pour les consommateurs de bière (d'occasionnels à journaliers). La neuroprotection conférée par la consommation modérée d'alcool est supposée être liée à une diminution des risques cardio-vasculaires (Tolstrup *et al.*, 2006).

L'effet de l'alcool sur la volumétrie cérébrale a été indiqué par plusieurs auteurs comme différent entre les hommes et les femmes. Ainsi, les résultats d'une première étude (Pfefferbaum *et al.*, 2001) ont mis en évidence chez les hommes des réductions des volumes de SG et de SB avec une augmentation des ventricules sans mettre en évidence d'effet sur leur échantillon féminin. Les auteurs d'une seconde ont montré l'inverse (Hommer *et al.*, 2001), c'est à dire une réduction de ratio de SG plus importante chez les femmes alcooliques que chez les hommes alcooliques, par rapport à leurs contrôles respectifs. La même année, d'autres auteurs (Mukamal *et al.*, 2001) n'ont pas rapporté de différence entre les hommes et les femmes. Finalement, dans une étude plus récente (Anstey *et al.*, 2006) les résultats ont indiqué que la consommation d'alcool est délétère chez les deux sexes, mais à des niveaux de consommation plus faible chez les femmes que chez les hommes, les auteurs expliquant que la masse corporelle moindre et la fraction corporelle d'eau inférieure chez les femmes leur font atteindre un taux sanguin plus élevé que les hommes avec la même dose absorbée.

6. DIABÈTE

Cette partie sur le diabète portera uniquement sur les associations entre les phénotypes morphologiques et les diabètes sucrés de type 1 et 2, ces derniers étant les plus présents dans les populations et les plus décrits dans la littérature. Le diabète de type 1 (insulino-dépendant) apparaît dans la majorité des cas chez le sujet jeune avec pour 90% des cas une origine auto-immune (idiopathique dans les autres cas) provoquant la destruction quasiment totale des cellules B des îlots de Langerhans, responsables de la

sécrétion de l'hormone hypoglycémiant : l'insuline. Les patients, outre une alimentation contrôlée, doivent alors pallier le manque de sécrétion de l'insuline par de multiples injections quotidiennes d'insuline. Le diabète de type 2 (insulino-résistant) est une disruption du métabolisme du glucose, associant une résistance à l'insuline (une augmentation de l'insuline plasmatique n'empêchant plus la libération de glucose par le foie et ne provoquant plus sa captation par les muscles et le tissu adipeux) et un épuisement progressif de la sécrétion d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans qui augmentaient leur sécrétion en compensation de la résistance. Le traitement consistera à accroître la sécrétion d'insuline pancréatique, à augmenter la sensibilité à l'insuline de ses cibles cellulaires ou à réduire l'absorption du glucose dans le tract gastro-intestinal.

Dans les deux cas, la régulation de la concentration sanguine de glucose est problématique. Or le cerveau dépend directement du glucose sanguin, ne disposant d'aucune réserve. Dans les études de neuroimagerie, deux types de variables sont couramment utilisées : la variable catégorielle (sujet diabétique si concentration en glucose élevée ou prise de traitement) et/ou une variable continue (concentration en glucose ou en hémoglobine glyquée).

Dans une étude (Araki *et al.*, 1994) basée sur l'évaluation manuelle de la présence ou absence d'atrophie (élargissement des *sulci* et ventricules latéraux principalement) chez 2566 sujets, les auteurs ont indiqué une prévalence supérieure d'atrophie chez les sujets diabétiques dans leur 6^{ème}, 7^{ème} ou 8^{ème} décennie par rapport aux sujets sains. D'autres auteurs (Schmidt *et al.*, 2004) en utilisant une évaluation semi-quantitative (échelle de gravité visuellement notée) ont indiqué que le diabète n'était pas associé avec l'atrophie corticale, mais qu'une interaction diabète*hypertension était significative. En effet, chez les sujets diabétiques normo-tendus le rapport des chances (rapport des cotes ou risque relatif rapproché) pour l'atrophie corticale sévère était de 1.25 (IC 95% 0.64-2.45) alors que chez les sujets diabétiques hyper-tendus il était de 2.34 (IC 95% 1.42-3.86). L'hypertension en absence de diabète n'était pas associée à l'atrophie corticale. Des auteurs utilisant une méthode quantitative automatisée (Enzinger *et al.*, 2005) ont montré que les sujets ayant une concentration d'hémoglobine glyquée au-dessus de la médiane avaient une vitesse d'atrophie cérébrale deux fois plus importante que les sujets du quartile le plus petit pour l'hémoglobine glyquée. Des auteurs analysant les volumes de cerveau entier, de SG et de SB (Ikram *et al.*, 2008) ont montré une association entre un volume de CE plus petit et le diabète, l'association étant plus forte avec le volume de SG ($B=-1.55$, IC 95% -3.20/0.10) qu'avec celui de SB ($B=0.01$, IC 95% -2.06/2.09). Dans une

étude récente (Debette *et al.*, 2011) les auteurs ont mis en évidence une association entre la présence de diabète et l'augmentation du volume de LCR dans les cornes temporales (marqueur alternatif du volume hippocampique) ainsi que le risque d'une vitesse de perte de volume de cerveau entier accru. Dans une étude complétant celle d'Ikram *et al.* (2008), et utilisant la même cohorte avec un échantillon plus important (Hoogendam *et al.*, 2012), les auteurs ont montré que les sujets diabétiques avaient des volumes de cerveau et de cervelet plus petits que les sujets sains, alors que la mesure de glycémie à l'entrée dans l'étude n'était, elle, liée qu'à un volume plus faible de cervelet. Dans l'étude la plus récente (Roberts *et al.*, 2014) les auteurs ont dichotomisé le facteur « diabète » en deux, avec début en milieu de vie (avant 65ans) et début en fin de vie (après 65ans), rappelant l'observation faite pour la mesure de pression sanguine (Tzourio *et al.*, 2014) avec une plus grande force de prédiction de la mesure en milieu de vie plutôt qu'en fin de vie. La présence d'un diabète en milieu de vie était associée dans cette étude à une réduction du volume de l'hippocampe et du volume de cerveau entier alors que la présence en fin de vie était associée uniquement avec le volume de cerveau entier (association plus faible qui plus est). Avec un écart de 15 ans en moyenne dans l'âge du diagnostic entre les deux, cela suggère que l'effet délétère du diabète sur la morphologie cérébrale est progressif et que l'hippocampe semble épargné au début.

7. CHOLESTÉROLÉMIE

Le cholestérol est un composant majeur des membranes cellulaires, contribuant à leur stabilité et à certaines de leurs fonctions ou structures comme les radeaux lipidiques sur lesquels sont greffées des protéines tels que les récepteurs de l'insuline ou des protéines fonctionnelles de l'exocytose. Le cholestérol dans le sang n'est pas sous forme « libre », il y est associé à des lipoprotéines qui sont des assemblages moléculaires de lipides et de protéines permettant leur transport en milieu aqueux. Ces lipoprotéines existent sous différentes familles :

- Les LDL (*low density lipoprotein*) transporte le cholestérol des lieux de sécrétion aux cellules de l'organisme exprimant les récepteurs nécessaires (selon leur besoin) ; si la lipoprotéine n'est pas reconnue (dégradé par oxydation, glycation, etc.) elle est phagocytée formant un dépôt, les plaques d'athérome.

- Les HDL (*high density lipoprotein*) récupèrent le cholestérol oxydé des artères et tissus extra-hépatiques pour les ramener au foie pour leur dégradation ou leur recyclage,
- Les chylomicrons assurent son transport de l'intestin vers les autres tissus (apport exogène),
- Les VLDL (*very low density lipoprotein*) sont assemblés dans le foie et convertis en LDL une fois dans la circulation sanguine (apport endogène).

L'adressage des lipoprotéines se fait par des protéines transmembranaires, les apolipoprotéines. L'ApoE4 décrit dans la partie CH2.III.4 (p. 98) fait partie des protéines transmembranaires des chylomicrons, IDL (*intermediate density lipoprotein*, particule intermédiaire entre les VLDL et les LDL), VLDL et LDL.

Dans les études de neuroimagerie, la variable utilisée peut-être catégorielle ou continue. La première indique si le sujet est hypercholestérolémique ou non (avec une séparation à 6.2 mmol/L de cholestérol total ou prise de traitement). La seconde indique soit le cholestérol plasmatique total (HDL+LDL+0.2 triglycérides) soit les concentrations des différentes catégories de lipoprotéines (HDL et LDL généralement).

Ainsi, les auteurs d'une étude chez le sujet âgé (Wolf *et al.*, 2004) ont indiqué une corrélation positive entre le HDL et le volume de l'hippocampe ainsi que le volume de cerveau entier chez tous les sujets (30 contrôles, 32 MCI et 36 avec démence), l'association entre les HDL et le volume de cerveau entier étant toujours significative lorsque les sujets sains seuls étaient considérés mais pas l'association avec le volume de l'HIP. La concentration en LDL n'était associée à aucun phénotype. Dans une seconde étude, les auteurs voulant répliquer les résultats de l'étude précédente (den Heijer *et al.*, 2005) chez 511 sujets sains, ont indiqué l'absence d'association entre le volume hippocampique et les HDL, résultat identique à ceux de l'étude de Wolf et al (2004), sans pour autant avoir testé l'association avec le volume de cerveau entier. Avec une étude voxel à voxel (Ward *et al.*, 2010) chez des sujets d'âge moyen (58.4 ± 8.0 ans), les auteurs ont indiqué avoir trouvé une corrélation positive entre la concentration en HDL et la densité en SG dans le pôle temporal (bilatéral), les *gyri* temporal moyen, temporo-occipital et temporal supérieur gauche ainsi que la région parahippocampique. Les auteurs précisent que les HDL n'étaient pas associés avec la SB et que le cholestérol non-HDL n'était pas associé ni avec la SG ni avec la SB. Dans une étude sur les vitesses annualisées des variations volumétriques cérébrales (Debette *et al.*, 2011) les auteurs ont indiqué

l'absence d'association de la variable catégorielle avec celle du cerveau entier ou celle du LCR des cornes temporales (marqueur du volume hippocampique). Avec une autre étude chez le sujet âgé (Hoogendam *et al.*, 2012) les auteurs ont utilisé les mesures de cholestérol total et de cholestérol HDL, indiquant une association positive entre les deux mesures et le volume du cervelet ainsi qu'une association positive entre le volume du cerveau entier (sans le cervelet) et le cholestérol total seulement. D'autres auteurs (van Velsen *et al.*, 2013), utilisant la même cohorte (Rotterdam Study) mais un échantillon plus petit (1022 vs. 3962 participants), ont indiqué l'absence d'association entre le cholestérol total et l'épaisseur corticale globale, alors que le cholestérol HDL était associé à une diminution de l'épaisseur du cortex occipital. Les auteurs d'une dernière étude (Franke *et al.*, 2014), qui utilisaient un score synthétique de vieillissement (différence de score *BrainAGE*⁵), n'ont pas indiqué d'association entre le cholestérol plasmatique total et une déviation du vieillissement cérébral par rapport à l'estimation de normalité de leur *framework*.

Nous voyons que parmi les auteurs, seuls ceux d'une étude ont rapporté un résultat délétère sur la morphologie cérébrale avec une diminution de l'épaisseur du cortex occipital (van Velsen *et al.*, 2013). Le cholestérol LDL n'a été associé dans aucune étude sur les phénotypes anatomiques. Par contre il a été rapporté comme étant associé à une augmentation du risque de démence avec accident vasculaire cérébral (Moroney JT *et al.*, 1999) et de démence vasculaire (Reitz *et al.*, 2004), même si tous les auteurs ne trouvent pas cette association (Ancelin *et al.*, 2013).

8. L'INDICE DE MASSE CORPORELLE

L'indice de masse corporelle est un indicateur de la corpulence des participants exprimé en kg/m^2 , il est considéré comme « normal » entre 18 et 25 kg/m^2 . L'obésité est souvent associée ou est un facteur de risque pour d'autres pathologies telle que le diabète, l'hypertension, l'hypercholestérolémie et l'hyperinsulinémie (NOEIE Panel, 1998) qui sont tous regroupés dans le syndrome métabolique, état pathologique d'un individu regroupant trois de ces symptômes.

⁵ Les auteurs de cette étude ont développé un *framework* (Franke *et al.*, 2010) estimant « l'âge cérébral » à partir de la segmentation de SG d'une acquisition en T1 après apprentissage automatique (*machine learning*) par *relevance vector machine* (<http://www.miketipping.com/sparsebayes.htm>). Le score *BrainAGE* correspond alors à la différence entre l'âge réel du participant et son « âge cérébral » estimé.

L'excès de masse grasseuse peut-être approché de plusieurs manières plus ou moins pertinentes selon le but de l'étude. L'indice de masse corporelle est une des mesures les plus utilisées en épidémiologie pour évaluer le surpoids et l'obésité. L'IMC reste une évaluation comportant des biais : pour un même IMC les femmes tendent à avoir plus de graisse corporelle ; il est de même pour les sujets âgés par rapport à des sujets jeunes. Par contre, les athlètes ont un IMC important pour une masse grasseuse faible. Néanmoins, il paraît relativement sûr d'avancer que dans une étude séparée pour le sexe chez le sujet âgé, la corrélation entre l'IMC et la masse grasseuse ne sera pas trop biaisée par la présence de sportifs de haut niveau (Gallagher *et al.*, 1996; Prentice and Jebb, 2001). Cependant l'ajout ou l'utilisation d'une mesure de la circonférence de la taille (ou du ratio circonférence de la taille sur circonférence des hanches, ajustant pour l'ossature) permet d'affiner le risque du sujet. En effet les circonférences de la taille et des hanches permettent d'affiner le critère d'obésité en évaluant les différences entre les différents types d'obésité (homogène, androïde, viscérale ou gynoïde), les conséquences de chaque étant différentes sur le système vasculaire (Bastien *et al.*, 2014).

Ainsi, les auteurs d'une première étude de neuroimagerie (Ward *et al.*, 2005) ont indiqué que l'IMC était associé à une réduction du volume cérébral chez des sujets d'âge moyen (≈ 54 ans). En suivant, dans une étude longitudinale (Enzinger *et al.*, 2005) les auteurs ont indiqué une association de l'IMC à une accélération de l'atrophie du cerveau entier chez le sujet âgé. Avec une étude allant du jeune adulte au sujet âgé (Taki *et al.*, 2008) les auteurs ont montré une association de l'IMC à une réduction du ratio de matière grise, avec la présence d'une interaction sexe*IMC indiquant que l'effet n'était présent que chez les sujets masculins. Ils ont indiqué que cette différence entre les deux sexes pouvait s'expliquer par le fait que chez les hommes, la graisse s'accumule viscéralement alors que chez les femmes elle se ferait plutôt en sous-cutané (Kotani *et al.*, 1994), chaque accumulation étant associée à des risques cardiovasculaires différents (Fox *et al.*, 2007). D'autres auteurs (Debette *et al.*, 2010) ont combiné les différentes mesures d'adiposité (IMC, circonférence de la taille, ratio taille/hanches, mesure en densitométrie du tissu adipeux sous-cutané et viscéral) en indiquant que les corrélations entre ces mesures allaient de 0.19 (entre le tissu adipeux sous-cutané et le ratio taille/hanche) à 0.85 (entre IMC et circonférence de la taille). Ainsi les auteurs ont montré que les cinq variables étaient associées avec un volume de cerveau entier réduit, ainsi que le ratio taille/hanches avec une augmentation du volume du LCR des cornes temporales. Les associations avec la réduction du volume de cerveau entier n'étaient plus significatives après inclusion dans le modèle de la concentration plasmatique en protéine C réactive,

suggérant un rôle de l'inflammation associée à l'obésité (Pou *et al.*, 2007). Dans une étude ultérieure, l'auteur principal (Debette *et al.*, 2011) a montré que dans les mesures d'adiposité prises au milieu de la vie pour des phénotypes morphologiques en fin de vie, seul le ratio taille/hanches était associé à une augmentation du risque de perte plus marquée de volume de cerveau entier, l'IMC n'était pas associé dans les analyses (régression linéaire ou logistique). Dans une étude combinant les approches transversales et longitudinales (Bobb *et al.*, 2012), il a été montré que l'IMC était associé à des volumes de cerveau entier et de SG plus faibles dans l'analyse transversale ainsi qu'à des réductions des vitesses d'atrophie de SB et de l'hippocampe dans l'analyse longitudinale. Une étude récente (van Velsen *et al.*, 2013) sur l'épaisseur corticale n'a indiqué aucune association de l'IMC avec les épaisseurs lobaires moyennes. Les résultats d'une étude (Debette *et al.*, 2014) ont montré, avec l'IMC, la circonférence de la taille et le ratio taille/hanches, qu'une réduction du volume cérébral était liée au ratio taille/hanches alors qu'une réduction du volume de SG était liée au ratio taille/hanche mais aussi à la circonférence de la taille. L'IMC, ainsi que le volume de l'hippocampe, n'étaient pas associés dans les analyses, qui n'incluaient pas la SB.

Nous pouvons voir que les différentes mesures d'adiposité sont associées avec les volumes cérébraux, négativement avec la SG et apparemment positivement pour la SB, le nombre d'études étant limité. Dans une étude chez le jeune adulte (Haltia *et al.*, 2007) les auteurs ont indiqué que les participants avec un fort IMC avait une volume de SB plus important que les sujets sains, effet réduit après mise en place d'un régime. L'hypothèse en découlant est que le métabolisme lipidique est modifié chez le sujet obèse, la plus grande disponibilité en lipide induisant une augmentation de la synthèse de myéline. Cela reste hautement spéculatif et nécessite des études spécifiques, tel que des études en imagerie par tenseur de diffusion.

9. L'ÉDUCATION

Un des auteurs les plus cités sur la réserve cognitive (Katzman *et al.*, 1988) a indiqué la présence, chez les participants, de sujets présentant des signes pathologiques morphologiques de la maladie d'Alzheimer (atrophie, plaques neuritiques, etc.) sans montrer de signe fonctionnel de la maladie, leur cerveau « supportant » plus de dégâts que la « normale » avant d'avoir des symptômes fonctionnels. Dans une étude ultérieure (Neuropathology Group. Medical Research Council Cognitive Function and Aging Study,

2001) les auteurs ont indiqué que 33% de sujets non-déments présentaient des densités de plaques neuritiques équivalentes à celles de patients Alzheimer. La réserve cognitive a donc pour objectif de caractériser l'écart entre les dégâts cérébraux et leurs manifestations cliniques observées chez certains sujets. L'éducation fait partie des variables caractérisant la réserve cognitive abordée dans le chapitre sur les différences entre les sexes. À ce jour, même si le concept de réserve cognitive reste à caractériser précisément, on peut le diviser en deux réserves : la réserve active ou cognitive (influencée par : l'éducation, la réussite professionnelle, la catégorie socio-professionnelle durant l'enfance et durant l'âge adulte, l'activité physique, l'engagement social, etc.) et la réserve passive ou cérébrale (influencée par : la taille de la tête, le nombre de neurones, la densité neuronale, le nombre de synapses, etc.) (Staff, 2012).

La première, la réserve cognitive, serait caractérisée par une différenciation d'utilisation des réseaux neuronaux, permettant la compensation de l'atteinte de ces réseaux. La différenciation pourrait reposer sur une meilleure efficacité (activation moindre du réseau mais performance égale ou supérieure dans la tâche) et/ou sur une meilleure capacité (possibilité d'une plus haute activation en fonction de la tâche) (Stern, 2009). Cela est simplifié volontairement par les auteurs de la revue citée ; les individus avec une réserve cognitive plus importante pourraient traiter la tâche différemment (activation d'un autre réseau) ou avoir plus de flexibilité dans les activations des réseaux. Pour ce dernier point, les résultats d'une étude d'imagerie fonctionnelle (Cabeza *et al.*, 2002) chez des sujets jeunes et âgés ont indiqué que dans une tâche de rappel de mots, les sujets âgés étaient divisibles en deux groupes, un performant bien et l'autre moins bien dans la tâche. L'activation cérébrale observée a indiqué que les sujets jeunes activaient asymétriquement la région impliquée dans la tâche, ainsi que les sujets âgés performant peu, alors que les sujets âgés présentant des performances similaires aux sujets jeunes activaient cette région bilatéralement (flexibilité). Les auteurs montraient aussi que l'activation était de moindre intensité chez les sujets jeunes comparés aux sujets âgés (meilleure efficacité).

La seconde réserve, la réserve passive ou cérébrale, est caractérisée par une compensation par le nombre. Ce ne sont donc plus les études d'imagerie fonctionnelles mais les études d'imageries anatomiques qui sont concernées. Une des premières études (Coffey *et al.*, 1999) a permis d'indiquer une augmentation du volume de LCR sulcal en fonction du niveau d'éducation de leurs sujets. Ce résultat a été aussi rapporté par d'autres auteurs (Longstreth Jr. *et al.*, 2000) utilisant une évaluation semi-quantitative et

indiquant un effet du niveau d'étude sur le grade sulcal (évalué visuellement). D'autres auteurs (Fotenos AF *et al.*, 2008) dans une étude avec des sujets âgés sains, ont montré que le volume du cerveau entier ainsi que sa vitesse de perte étaient liés au statut socio-économique (utilisé en trois catégories), le plus haut statut ayant le volume le plus faible et la perte la plus rapide. De plus, ils ont testé leurs sujets sains avec le Pittsburgh Compound B (marqueur des plaques amyloïdes) et ont montré une interaction entre la positivité au marqueur (cognitivement sain avec présence de marqueurs anatomiques asymptomatiques, stade préclinique d'Alzheimer attesté à posteriori à CDR=0.5) et le statut socio-économique, les individus positifs avec un haut statut étant ceux qui présentaient l'atrophie la plus importante. Une autre publication (Pillai *et al.*, 2012) a permis d'indiquer une diminution de l'épaisseur corticale dans les cortex temporal, occipital et pariétal ainsi qu'une réduction du volume de l'hippocampe chez les sujets avec un haut niveau d'étude. La même année, des auteurs ont indiqué un lien opposé (Liu *et al.*, 2012) chez les sujets sains de leur étude, ceux ayant un haut niveau d'éducation ayant des épaisseurs corticales plus importantes pour le pôle temporal, le *gyrus* temporal transverse et l'isthme du cortex cingulaire que ceux avec un bas niveau d'étude. Utilisé en variable continue, le niveau d'étude n'était pas associé aux phénotypes étudiés. L'effet observé était inversé dans leur groupe de patients de la maladie d'Alzheimer, c'est à dire une réduction de l'épaisseur corticale (*gyri* temporaux supérieur, inférieur et moyen, fusiforme, frontal moyen caudal, pariétal inférieur et supérieur, péricalcarin, precuneus, occipital latéral) avec le niveau d'étude (continu ou dichotomisé). La différence de résultat entre les deux groupes était expliquée par les auteurs qui l'ont mise en lien avec le résultat de Fotenos *et al.* (2008) montrant que l'association d'un haut statut avec un stade préclinique d'Alzheimer était associé à une dégradation plus importante de la morphologie cérébrale.

Une des conséquences contre-intuitives de la réserve cognitive, est la dégradation plus rapide des performances cognitives chez les sujets avec un haut niveau d'étude. En prenant pour exemple la mémoire, une revue de la littérature (Stern, 2009) a illustré cela (Figure 25). Les sujets ayant un haut niveau d'étude peuvent maintenir la fonction (mémoire) avec plus de signes pathologiques (atrophie, plaques neuritiques, etc.) que les sujets ayant un faible niveau d'étude. Conséquemment, le point d'inflexion de la performance de la mémoire chez ces sujets sera plus tardif (relativement à la progression de la pathologie).

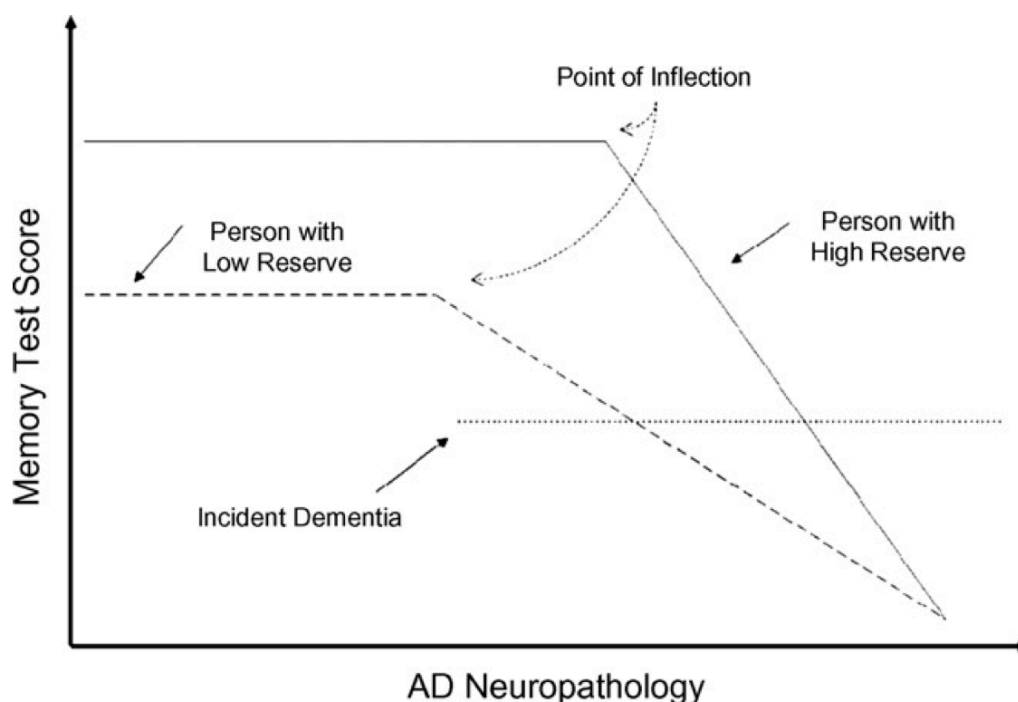


Figure 25 : Théorisation du déclin cognitif relatif chez les sujets avec ou sans réserve cognitive. Extrait de Stern et al., 2009.

Par la suite, l'avancée de la pathologie arrive à un point supprimant le support de la fonction (seul point commun entre les sujets à haute et faible réserve cognitive). Cette théorie est basée sur le fait que si la réserve cognitive diminue la perte de performance cognitive, la destruction du substrat supportant cette fonction (neurone, réseau, etc.) annihile la fonction. L'apparition du déclin est plus tardive, mais le niveau de pathologie entraînant la perte de fonction serait identique chez les deux types de sujets. Ainsi, le déclin cognitif chez les sujets avec un haut niveau d'étude apparaît certes plus tardivement, mais est plus rapide. Cela a été confirmé par les auteurs d'une étude (Hall *et al.*, 2007) chez des sujets avec démence incidente. Ils ont montré que chaque année d'éducation retardait l'accélération du déclin des performance à un test de mémoire (*Buschke Selective Reminding Test*) de 0.21 an, à la suite de quoi le déclin était accéléré de 0.1 point par an et par année d'éducation.

En étude de neuro-anatomie chez les sujets sains, il semble que le consensus aille vers une augmentation de l'atrophie avec le niveau d'étude. L'effet de l'éducation sur la morphologie cérébrale ne semble pas aller dans le sens d'une augmentation de la réserve par le nombre (synapses). Néanmoins le décalage a priori induit par cette réserve, influencée par l'éducation, entre les atteintes cognitives et morphologiques du vieillissement est à prendre en compte dans les analyses chez le sujet sain pour éviter tout

effet de confusion. En effet l'exclusion des sujets dits déments, ayant un MMSE faible, repose sur le fait que ces sujets peuvent présenter de grandes différences morphologiques (volumétriques par exemple) et ainsi biaiser l'analyse statistique. Or si les sujets avec un haut niveau d'étude maintiennent leurs capacités cognitives (MMSE normal) quand bien même leur cerveau présente une morphologie « pathologique », il y a possibilité de biais dans l'analyse.

IV. OBJECTIFS DE LA THÈSE

Au vu des résultats contradictoires et incomplets concernant le tabac, le but de notre thèse a donc été d'utiliser une large cohorte longitudinale de sujets âgés sains, l'étude des Trois-Cités (3C ; Alperovitch *et al.*, 2002), pour tenter de quantifier les effets sexe- et tissus-spécifiques de la consommation de tabac sur l'atrophie cérébrale et de les comparer aux effets des autres facteurs connus du vieillissement cérébral. De plus, grâce au design longitudinal cette étude, nous avons pu estimer les effets de la consommation de tabac à la fois sur l'échantillon transversal et sur l'échantillon longitudinal ayant effectué l'IRM de suivi 4 ans après leur entrée dans l'étude. La combinaison des approches transversale et longitudinale, implémentée dans peu d'études sur le même sujet (cf supra) nous a donné l'opportunité de voir des aspects complémentaires de la consommation de tabac sur l'atrophie cérébrale, c'est à dire les effets cumulés au cours de la vie et les effets sur le cerveau de sujets âgés sains. L'étude comprend aussi deux niveaux d'analyse, un global incluant des régions d'intérêt (HIP, CAU, PAL, PUT et THA) réalisé dans les études transversales et longitudinales. Puis nous avons effectué une analyse au niveau local, voxel à voxel, afin de confirmer les résultats possibles sur les régions d'intérêt mais aussi éventuellement d'en identifier d'autres.

**CHAPITRE 3 : Étude
quantitative des effets du
tabagisme sur le
vieillissement cérébral
macroscopique dans la sous-
cohorte « 3 Cités-Dijon
IRM ».**

I. DESCRIPTION DE L'ÉTUDE « 3 CITÉS »

1. OBJECTIFS ET ÉCHANTILLONS

L'étude « 3 Cités » (3C, <http://www.three-city-study.com/l-etude-des-trois-cites-3c-historique.php>) est une enquête épidémiologique de grande ampleur menée en France sous la coordination du Dr Alperovich de l'unité Inserm U708. L'objectif principal de cette enquête est l'étude du lien entre pathologies vasculaires et démence sans oublier les objectifs secondaires tels que la détermination de l'incidence et des facteurs de risque des accidents vasculaires cérébraux ou des troubles du sommeil. Les financements proviennent de la Fondation pour la Recherche Médicale, de Sanofi Synthelabo, de la Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs salariés, la Mutuelle Générale de l'Education Nationale, la Direction Générale de la Santé, l'ANR, la Fondation de France, et la Fondation Plan Alzheimer.

Les données de l'étude ont été recueillies par la participation de 10000 personnes âgées de plus de 65 ans recrutées sur les listes électorales de la communauté urbaine de Bordeaux, de la ville de Dijon et du district de Montpellier (Alperovich *et al.*, 2002). Les participants, nés entre 1900 et 1935 ont lu et signé un consentement pour le protocole de l'étude, approuvé par le comité de l'hôpital Kremlin-Bicêtre. Certains participants ont été suivis pendant 10 ans et examinés à plusieurs occasions. À chaque passage et pour chaque participant, des données biologiques, sociologiques et cognitives ont été collectées. De plus, il était prévu que 5000 sujets (3500 à Dijon et 750 dans les deux autres villes) soient examinés par IRM à leur entrée dans l'étude ainsi que 4 ans plus tard. Les études réalisées dans cette thèse sont faites sur les données des participants de Dijon ayant été examinés au moins une fois en IRM.

Un grand nombre de variables incluant l'âge, le sexe et le niveau d'éducation a été renseigné individuellement et permet de caractériser les sujets. L'âge utilisé est l'âge au premier examen. Le niveau d'éducation est estimé avec le nombre d'années d'études réalisées à partir de l'école primaire (incluse).

Au cours d'un examen, le recueil des données permettait d'évaluer les facteurs de risques vasculaires : antécédents de maladies vasculaires ou de pathologies augmentant le risque vasculaire, mesure de la pression artérielle, mesure anthropométrique et calcul de l'indice de masse corporelle, bilan biologique sanguin. Cet examen collectait aussi les traitements utilisés par les participants (anti-dépresseur, anti-hypertenseur, traitement hormonal de substitution, etc.). Une banque de matériels biologiques a aussi été mise en place (sérum, plasma, ADN, etc.) permettant le génotypage des sujets pour les gènes candidats à la détermination de maladies cardio-vasculaires ou de démence (apolipoprotéine E entre autres).

Les mesures de pression artérielles systolique et diastolique ont été réalisées à l'entrée dans l'étude et à chaque suivi. Les mesures étaient faites en position assise, une fois avant et une fois après l'entretien, les deux mesures étant moyennées par la suite. Une pression artérielle élevée était définie comme étant supérieure à 140mmHg pour la systole et 90mmHg pour la diastole. Les sujets prenant un anti-hypertenseur étaient classés comme hypertendus. La glycémie et le cholestérol total étaient mesurés, les participants étant ensuite définis comme diabétiques si le glucose sanguin était ≥ 7 mmol/L ou prise d'un traitement contre le diabète et hypercholestérolémique si cholestérol sanguin était ≥ 6.2 mmol/L ou prise d'un traitement hypolipémiant. La consommation d'alcool a été estimée en gr/jour d'alcool pur. L'indice de masse corporelle (IMC) était calculé comme le ratio du poids (kg) sur le carré de la taille (m²). Le génotypage de l'allèle epsilon de l'apolipoprotéine E a permis la classification des participants porteur ou non porteur d'un allèle epsilon⁴.

Au regard de leur consommation de tabac, les participants furent classés non-fumeur, ancien fumeur ou fumeur actif. Leur consommation cumulée au cours de la vie a été estimée en « paquets-années », correspondant au produit du nombre de paquets de cigarettes consommés par jour par le nombre d'années de consommation de tabac.

Les participants ont aussi passé des tests psychométriques afin de détecter d'éventuels troubles cognitifs, complétés par un examen médical (diagnostic de démence et classification). Les études présentées par la suite ne comportant que des sujets sains, les scores de ces tests sont élevés.

- Le *Mini Mental State Examination* (MMSE) est un test d'efficacité cognitive globale. Ce test, aboutissant sur un score allant jusqu'à 30 points, évalue les

fonctions cognitives suivantes : orientation dans le temps et l'espace, l'apprentissage, l'attention, le calcul mental, le rappel, le langage et la praxie (Folstein *et al.*, 1975).

- L'échelle CES-D (*Center for Epidemiological Studies - Depression scale*) évalue l'humeur du sujet en lui demandant avec quelle fréquence, durant la semaine écoulée, il a ressenti des symptômes ou des comportements souvent associés à la dépression. C'est une méthode d'approche et non un outil de diagnostic clinique. Il comporte 20 items avec 4 réponses pondérées (de 0 à 3 points) en fonction de la fréquence du symptôme ou comportement.

2. LA SOUS-COORTE 3C-DIJON ÉTUDIÉE

Les participants inscrits à l'étude entre Juin 1999 et Septembre 2000, âgés entre 65 et moins de 80 ans, capables de venir au centre d'examens (n=2763) ont été invités à passer une IRM du cerveau. Bien que 2285 personnes aient accepté l'IRM, à cause de limitations financières, seuls 1924 participants furent scannés (sous-échantillon 3C-D-IRM). Comparé aux participants non-scannés, l'échantillon 3C-D-IRM était plus jeune (72.5 vs 73.4, <0.001), était composé de moins de femmes (62.2 vs 71.0, <0.001), avait un meilleur niveau d'étude (bacheliers : 23.5% vs 17.8% ; <0.001) et un meilleur état de santé (62.3% vs 56.4% ; <0.001). Environ 4 ans après l'inclusion dans l'étude, 1402 participants de 3C-D-IRM acceptèrent de passer une deuxième IRM de suivi (78% de suivis). Certains participants ont été exclus a posteriori, notamment à cause de 1) médiocre qualité technique de l'IRM, 2) échec du traitement de l'IRM, 3) données manquantes (démographique, biologique, cognitive, génétique) ou 4) Historique d'attaque cérébrale ou diagnostic de démence en accord avec les critères DSM-IV (American Psychiatric Association, 1994). Il en résulta un échantillon de 1451 (920 femmes et 531 hommes) participants avec une IRM et 1111 (721 femmes et 390 hommes) disposant de l'IRM de suivi.

A. Caractéristiques des échantillons.

Dans l'étude de l'influence de la consommation de tabac sur la volumétrie cérébrale, les analyses ont été ajustées pour les principaux facteurs de risques cardiovasculaires : l'âge, le niveau d'éducation, la consommation d'alcool, l'indice de masse corporelle, le diabète, les pressions sanguines diastolique et systolique, le

cholestérol, l'apolipoprotéine E4, la dépression (CES-D), le MMSE et la charge en hyperintensités de la substance blanche.

Les caractéristiques biomédicales des échantillons transversaux et longitudinaux, séparément pour hommes et femmes, sont rapportées dans la Table 8. Que ce soit pour l'échantillon transversal ou longitudinal, les femmes et les hommes diffèrent dans tous les paramètres sauf l'âge et le score MMSE. Les hommes avaient de plus grandes valeurs pour le niveau d'éducation, la glycémie, les pressions sanguines, l'IMC, la consommation de tabac et d'alcool et de plus petites valeurs pour le score CES-D et la cholestérolémie. Notez en particulier la différence très marquée dans les fréquences de non-fumeurs chez les hommes (30.6%) et les femmes (82.4%). L'échantillon longitudinal différait des sujets n'y étant pas inclus, étant plus jeunes (72.0 vs. 73.2 ans, $p=0.004$ pour les hommes et 72.3 vs. 74.1 ans, $p<10^{-4}$ pour les femmes), plus éduqués (10.32 vs. 6.65 ans pour les hommes et 8.96 vs. 5.65 ans pour les femmes, $p<10^{-4}$ dans les deux cas), ayant un meilleur score CES-D (7.17 vs. 8.91, $p=0.0093$ pour les hommes et 11.36 vs 13.03, $p=0.026$ chez les femmes) ainsi qu'un meilleur score MMSE (27.85 vs. 27.52, $p=0.042$ chez les hommes et 27.76 vs. 27.37, $p=0.0069$ chez les femmes). De plus, les femmes de l'échantillon longitudinal avaient un IMC plus faible (24.75 vs. 25.61 kg/m², $p=0.0057$) et une glycémie plus faible (4.93 vs. 5.12 mmol/L, $p=0.039$).

	Échantillon transversal			Échantillon longitudinal		
	Hommes	Femmes	<i>p</i>	Hommes	Femmes	<i>p</i>
Taille échantillon	531	920		390	721	
Âge (années)	72.3 (4.00)	72.7 (4.06)	0.097	72.0 (3.93)	72.3 (3.93)	0.27
Éducation (années)	9.3 (4.8)	8.2 (4.4)	$<10^{-4}$	10.3 (4.6)	8.9 (4.2)	$<10^{-4}$
Statuts fumeur			$<10^{-4}$			$<10^{-4}$
<i>non-fumeurs</i>	162 (30.5%)	758 (82.4%)		118 (30.3%)	596 (82.7%)	
<i>anciens fumeurs</i>	320 (60.3%)	128 (13.9%)		235 (60.2%)	99 (13.7%)	
<i>fumeurs actifs</i>	49 (9.2%)	34 (3.7%)		37 (9.5%)	26 (3.6%)	
Alcool (g/jour)	20.7 (16.1)	7.37 (8.27)	$<10^{-4}$	21.0 (16.5)	7.28 (8.23)	$<10^{-4}$
IMC (kg/m ²)	25.9 (3.25)	24.9 (3.90)	$<10^{-4}$	25.8 (3.08)	24.7 (3.72)	$<10^{-4}$
Glycémie (mmol/L)	5.26 (1.17)	4.97 (1.14)	$<10^{-4}$	5.29 (1.26)	4.93 (0.95)	$<10^{-4}$
Diabète	10.2%	6.1%	0.014	11.0%	5.8%	0.008
PAS (mmHg)	155.8 (21.7)	144.8 (22.2)	$<10^{-4}$	156.2 (21.4)	144.3 (22.0)	$<10^{-4}$
PAD (mmHg)	87.9 (11.3)	83.3 (11.4)	$<10^{-4}$	88.3 (11.1)	83.3 (11.0)	$<10^{-4}$
Hypertension (%)	83.2%	72.5%	$<10^{-4}$	83.0%	70.9%	$<10^{-4}$
Cholestérol (mmol/L)	5.58 (0.90)	5.91 (0.94)	$<10^{-4}$	5.57 (0.90)	5.89 (0.93)	$<10^{-4}$
Hypercholestérolémie (%)	33.7%	40.9%	0.006	35.9%	41.2%	0.085
Génotype ApoE4			0.05			0.088
<i>porteur</i>	403 (76.0%)	474 (81.2%)		297 (76.2%)	587 (81.4%)	
<i>non porteur</i>	128 (24.1%)	173 (18.8%)		93 (23.8%)	134 (18.6%)	
CES-D	7.63 (6.9)	11.7 (9.4)	$<10^{-4}$	7.2 (6.4)	11.4 (9.2)	$<10^{-4}$
MMSE	27.77 (1.65)	27.67 (1.81)	0.36	27.85 (1.56)	27.76 (1.76)	0.36
HSB (% de SB)	2.25 (1.72)	2.14 (1.93)	0.30	2.21 (1.75)	2.09 (1.95)	0.32

Table 8 : Caractéristiques biocliniques des sous-groupes de femmes et d'hommes des échantillons transversal et longitudinal à leur entrée dans l'étude. Les valeurs sont les moyennes (déviations standard) ou des pourcentages. *p* est pour la comparaison entre les femmes et les hommes (t-tests de Student ou test du Chi²). IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systoliques et diastoliques, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination. HSB : Hyperintensités de la Substance Blanche en pourcentage du volume de SB.

La Table 9 décrit les paramètres de la consommation de tabac des femmes et hommes anciens fumeurs ou fumeurs actifs dans les échantillons transversal et longitudinal. A part les différences de distribution des groupes de fumeurs entre les deux sexes décrites ci-dessus, les hommes et les femmes différaient sur l'âge du début de la consommation tabac (les hommes commençant 4 ans plus tôt, $p < 10^{-4}$ pour les anciens fumeurs et $p = 0.0037$ pour les fumeurs actifs) et leurs groupes d'anciens fumeurs différaient pour le nombre d'années de consommation de tabac (les hommes ayant fumé trois ans de plus que les femmes, $p = 0.0037$; $p = 0.14$ pour les fumeurs actifs). Mais la différence la plus importante réside entre les groupes d'anciens fumeurs et de fumeurs actifs qui différaient pour le nombre d'années de consommation ($p < 10^{-4}$ pour les deux sexes) et paquets-années ($p < 10^{-4}$ pour les hommes et $p = 0.0019$ pour les femmes).

	Échantillon transversal				Échantillon longitudinal			
	Hommes		Femmes		Hommes		Femmes	
	Anciens	Actifs	Anciennes	Actives	Anciens	Actifs	Anciennes	Actives
Âge de début	18.9 (4.0)	19.2 (5.3)	23.2 (7.4)	24.1 (9.5)	18.7 (4.0)	19.4 (5.9)	23.2 (7.6)	21.6 (7.8)
Âge de fin	46.3 (13.0)	n.a.	46.9 (13.6)	n.a.	46.1 (12.5)	n.a.	47.3 (14.1)	n.a.
Années de conso.	27.4 (13.3)	51.1 (12.5)	23.7 (14.0)	48.2 (10.4)	27.3 (12.7)	52.4 (7.0)	24.1 (14.2)	50.6 (8.9)
Années sans tabac avant l'étude	25.9 (12.5)	n.a.	25.1 (13.8)	n.a.	26.0 (12.4)	n.a.	24.5 (13.8)	n.a.
Paquets-années	21.4 (18.4)	35.6 (20.2)	15.2 (23.5)	29.0 (18.8)	21.5 (12.5)	33.5 (21.7)	15.3 (24.3)	29.3 (17.3)

Table 9 : Historique de la consommation des participants à l'étude dans les échantillons transversal et longitudinal. Les valeurs sont les moyennes (déviations standard) à l'entrée des participants dans l'étude.

3. L'IRM DANS LA SOUS-COHORTE 3C-DIJON

Pour la ville de Dijon, la première série d'acquisition IRM s'est déroulée entre Mars 1999 et Mars 2001 alors que la deuxième a pris place entre Avril 2003 et Décembre 2004. Les deux examens IRM, à l'entrée dans l'étude (t_0) et au suivi à 4 ans (t_1), ont été acquis en utilisant le même scanner (1.5T, Siemens) et un protocole d'acquisition d'image standardisé.

A. Caractéristiques des séquences

Pour chaque participant, des acquisitions IRM pondérées en T1, T2 et DP (densité de protons) ont été réalisées. L'IRM pondérée en T1 était acquise en séquence « *3D inversion recovery fast spoiled-gradient echo* » (3D IR-FSPGR). Les deux acquisitions pondérées en T2 et DP étaient obtenues au cours de la même séquence « *2D turbo spin echo* » avec deux temps d'écho. Les caractéristiques des acquisitions sont indiquées en Table 10.

	T1	T2	DP
TR (ms)	9.7	4400	4400
TE (ms)	4	16	98
TI (ms)	600	0	0
Orientation	Coronale	Axiale	Axiale
Taille de pixel (mm)	0.98 x 0.98	0.98 x 0.98	0.98 x 0.98
Épaisseur de coupe (mm)	1	3	3
Matrice d'acquisition (pixels)	192 x 256	190 x 256	190 x 256

Table 10 : Paramètres des acquisitions IRM selon la pondération. TR : temps de répétition, TE : temps d'écho et TI : temps d'inversion.

B. Analyse des acquisition IRM

Les acquisitions IRM ont été traitées selon une méthode entièrement automatisée, nommée *Voxel Based Morphometry (VBM)*, et intégrée dans le logiciel SPM99. Cette procédure automatisée permet l'obtention pour chaque participant des cartes de probabilités tissulaires de SG, SB et LCR pour chaque acquisition (entrée dans l'étude t0 et après 4 ans t1).

Les cartes de probabilités tissulaires permettent l'obtention des volumes de chaque tissu comme étant l'intégrale de l'intensité des voxels de la carte de probabilité. Le volume total intracrânien est défini comme étant la somme de volumes de SG, SB et LCR et le volume cérébral comme étant la somme des volumes de SG et de SB. Pour les analyses longitudinales, nous avons calculé la vitesse de changement annualisée pour chaque tissu telle que :

$$\Delta Vol = Vol_{t1} - Vol_{t0} / \Delta t$$

où Vol_{t_0} et Vol_{t_1} correspondent respectivement aux volumes obtenus à l'entrée dans l'étude et au suivi, Δt correspondant au délai passé entre les deux IRM. Les IRM cérébrales individuelles étant recalées dans un espace commun, nous avons pu extraire les volumes de l'hippocampe et des ganglions de la base à partir de la carte de densité de SG et d'un atlas de régions d'intérêt développé au laboratoire (AAL, Tzourio-Mazoyer *et al.*, 2002). Les régions incluses définies comme des ganglions de la base étaient: le noyau caudé (CAU), le putamen (PUT), le pallidum (PAL) ainsi que le thalamus (THA). Dans les deux cas, le volume de la région est défini comme étant la somme des régions droite et gauche. Ceci a été réalisé pour les deux acquisitions dans le cas des participants de l'échantillon longitudinal, les vitesses de changement annualisées de l'hippocampe et des ganglions de la base étant alors calculées comme indiqué pour les volumes globaux.

Les analyses VBM ont été réalisées sur les cartes de probabilités de tissu cérébral, correspondant à la somme des cartes de probabilités de substance grise et de substance blanche.

Le volume total des hyperintensités de la substance blanche (HSB) a été estimé selon une procédure multispectrale (T1, T2 et DP) développée au laboratoire (Maillard *et al.*, 2008). Nous avons calculé la « charge en HSB » correspondant au pourcentage de SB occupé par les hyperintensités telle que : $Vol_{HSB}/Vol_{SB} \times 100$. Certains auteurs choisissent, lorsqu'il est étudié, d'utiliser le volume de SB « normale » ($Vol_{SB} - Vol_{HSB}$) ; nous avons choisi d'utiliser la charge de HSB comme covariable dans nos études, à l'instar d'autres études (Enzinger *et al.*, 2005 ; Ikram *et al.*, 2008 ; Durazzo *et al.*, 2012 ; Hoogendam *et al.*, 2012)

C. Volumétrie globale et régionale

Les volumes moyens des phénotypes cérébraux dérivés des images d'IRM sont présentés en Table 11. A l'entrée dans l'étude, les échantillons transversal et longitudinal différaient pour le volume de l'HIP chez les hommes (6.81 vs. 7.08 cm³, $p=0.001$) ainsi que pour les volumes de CE (926 vs. 940 cm³, $p=0.022$), SG (489 vs. 492 cm³, $p=0.0007$) et HIP (6.19 vs. 6.46 cm³, $p<10^{-4}$) chez les femmes. Comme on pouvait l'attendre, les hommes présentaient des volumes de VTI, CE, SG, SB et HIP plus importants que ceux des femmes ($p<10^{-4}$ pour les 5 volumes). Quand aux vitesses annualisées de changement de ces phénotypes, nous avons trouvé des pertes significatives de CE, SG, SB et HIP chez les femmes et les hommes ($p<10^{-4}$ dans tous les cas). Notez que bien que les femmes et les

hommes ne différaient pas pour la vitesse de changement de CE, les femmes perdaient plus de SG que les hommes et l'inverse était trouvé pour SB.

4. ANALYSES STATISTIQUES

Les analyses statistiques ont été effectuées séparément sur les hommes et sur les femmes afin d'éviter les biais de confusion dus au sexe sur l'atrophie cérébrale et sur la consommation de tabac. Les effets associés à chaque statut fumeur sur les volumes (CE, SG, SB et HIP) à l'entrée dans l'étude ou sur leur vitesses annualisées de changement ont été étudiés en utilisant un modèle linéaire généralisé. L'échantillon transversal (n=1451) a été utilisé pour les analyses à l'entrée dans l'étude et l'échantillon longitudinal (n=1111) pour les analyses sur les vitesses annualisées de changement. L'âge, le niveau d'éducation, le score au MMSE, l'IMC, le score CES-D, les PAS et PAD, glycémie, cholestérolémie, consommation d'alcool, le volume d'HSB, et le génotype de l'ApoE4 ont été inclus comme covariables. Le VTI (volume intracrânien total) a été utilisé comme covariable pour les analyses sur CE, SG et SB alors que le volume de SG a été utilisé pour les analyses sur l'HIP ainsi que les ganglions de la base afin de voir les effets spécifiques sur ces structures par rapport au reste de la SG.

Pour chaque association significative du statut fumeur avec un phénotype, on a cherché un possible effet dose-dépendant au travers de la modélisation linéaire avec la variable paquets-années comme variable indépendante et les mêmes covariables que précédemment. Pour l'intérêt de la comparaison avec les autres études, nous avons effectué des analyses supplémentaires sur l'intégralité de l'échantillon en incluant le sexe comme covariable et une interaction sexe par statut fumeur. Pour toutes les analyses, les variables continues (c'est à dire toutes sauf : statut fumeur et ApoE, ainsi que sexe et son interaction avec le statut fumeur) ont été centrées et réduites, permettant une comparaison de taille d'effet des différentes variables indépendantes. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel JMP Pro (SAS Institute Inc., Cary, USA).

Les analyses statistiques effectuées sur les cartes de probabilité tissulaire du cerveau ont été réalisées en utilisant le modèle linéaire généralisé implémenté dans le logiciel SPM5. Les covariables utilisées étaient les mêmes que pour les analyses sur la volumétrie globale et régionale à la différence qu'elles n'étaient que centrées et pas réduites. Les analyses groupant hommes et femmes ont aussi été faites avec le sexe

comme covariable et une interaction sexe*statut fumeur. Les cartes ont été seuillées à une significativité $p < 10^{-3}$ étant donnée l'aspect exploratoire de cette analyse.

	Échantillon transversal		Échantillon longitudinal		Échantillon longitudinal		Échantillon longitudinal		
	À l'entrée		À l'entrée		Au suivi		Variation annuelle		
	Hommes	Femmes	Hommes	Femmes	Hommes	Femmes	Hommes	Femmes	<i>p</i>
VTI	1462 (116)	1297 (94)	1462 (111)	1294 (94)	1460 (111)	1291 (94)	-0.48 (1.25)	-0.73 (1.03)	0.0003
<i>nonF</i>	1484 (122)	1297 (98)	1491 (114)	1293 (93)	1489 (114)	1290 (93)	-0.56 (1.08)	-0.76 (1.05)	0.061
<i>ancF</i>	1450 (114)	1293 (102)	1446 (110)	1290 (96)	1445 (111)	1288 (96)	-0.41 (1.35)	-0.58 (0.91)	0.27
<i>Fact</i>	1463 (100)	1317 (125)	1471 (91)	1330 (118)	1469 (90)	1328 (118)	-0.61 (1.15)	-0.59 (0.90)	0.95
CE	1043 (86)	937 (76)	1046 (88)	940 (76)	1028 (86)	921 (73)	-5.00 (3.06)	-5.34 (2.92)	0.068
<i>nonF</i>	1062 (89)	937 (75)	1070 (91)	940 (74)	1052 (90)	921 (72)	-5.13 (2.73)	-5.38 (2.89)	0.37
<i>ancF</i>	1036 (86)	933 (78)	1033 (87)	935 (75)	1016 (86)	918 (72)	-4.73 (2.95)	-4.88 (3.05)	0.67
<i>Fact</i>	1032 (67)	942 (86)	1045 (65)	952 (91)	1023 (61)	930 (93)	-6.32 (4.24)	-6.14 (3.02)	0.86
SG	539 (46)	489 (42)	540 (47)	492 (42)	527 (45)	476 (40)	-3.63 (3.27)	-4.49 (2.98)	<10⁻⁴
<i>nonF</i>	548 (50)	489 (41)	553 (50)	492 (41)	539 (50)	475 (40)	-3.81 (3.06)	-4.52 (2.94)	0.018
<i>ancF</i>	535 (45)	490 (46)	535 (45)	492 (45)	522 (44)	477 (41)	-3.43 (3.25)	-4.19 (3.27)	0.054
<i>Fact</i>	531 (36)	495 (50)	535 (37)	501 (54)	519 (33)	483 (55)	-4.33 (3.92)	-4.94 (2.78)	0.50
SB	505 (48)	447 (42)	506 (49)	447 (42)	500 (48)	445 (41)	-1.37 (2.26)	-0.85 (2.20)	0.0002
<i>nonF</i>	514 (47)	448 (43)	517 (48)	449 (42)	513 (49)	446 (41)	-1.31 (2.33)	-0.86 (2.21)	0.044
<i>ancF</i>	501 (49)	443 (40)	499 (49)	443 (38)	494 (49)	441 (39)	-1.30 (2.21)	-0.70 (2.21)	0.024
<i>Fact</i>	502 (41)	446 (44)	510 (39)	451 (46)	504 (38)	447 (49)	-1.99 (2.27)	-1.21 (1.85)	0.15
HIP	7.01 (0.84)	6.40 (0.73)	7.08 (0.83)	6.46 (0.72)	6.84 (0.87)	6.20 (0.78)	-0.066 (0.069)	-0.071 (0.062)	0.17
<i>nonF</i>	7.11 (0.85)	6.41 (0.73)	7.21 (0.84)	6.46 (0.72)	6.97 (0.88)	6.22 (0.78)	-0.069 (0.063)	-0.069 (0.061)	0.92
<i>ancF</i>	6.97 (0.84)	6.32 (0.71)	7.03 (0.84)	6.39 (0.71)	6.82 (0.88)	6.12 (0.74)	-0.061 (0.067)	-0.074 (0.062)	0.090
<i>Fact</i>	6.88 (0.63)	6.44 (0.76)	6.92 (0.63)	6.52 (0.80)	6.61 (0.70)	6.14 (0.87)	-0.089 (0.088)	-0.11 (0.071)	0.41

Table 11: Phénotypes cérébraux dérivés des examens IRM des sous-groupes d'hommes et de femmes de l'échantillon transversal à l'entrée dans l'étude et de l'échantillon longitudinal à l'entrée dans l'étude, au suivi (environ 4 ans après l'entrée) ainsi que leurs variations annuelles. VTI : volume total intracrânien, CE : cerveau entier (SG+SB), SG : substance grise, SB : substance blanche, HIP : hippocampe bilatéral. Les variations annuelles (en cm³/an) sont le ratio de la différence entre le volume au suivi et le volume à l'entrée dans l'étude sur le délai entre le suivi et l'entrée. *nonF* : non-fumeurs, *ancF* : anciens fumeurs, *Fact* : fumeurs actifs. La *p*-value est pour la comparaison des vitesses annualisées d'atrophie entre les hommes et les femmes.

II. ETUDE TRANSVERSALE

1. RÉSULTATS

A. Cerveau entier.

La Table 12 rapporte les résultats de l'ANCOVA, incluant la significativité du statut tabac alors que les tailles d'effets et les significativité des tests post-hoc des comparaisons des groupes de fumeurs sont présentés en Figure 27 (p133). Les effets sur CE à l'entrée dans l'étude n'ont pas atteint le seuil de significativité à la fois chez les hommes et chez les femmes. La tendance observée chez les hommes était due à un plus petit volume de CE chez les fumeurs actifs comparés aux non-fumeurs ($p=0.017$, test post-hoc, voir Figure 27). Il n'y avait pas de corrélation linéaire entre le volume de CE et la variable paquets-années chez les hommes fumeurs actifs (pente de régression=-0.027, $p=0.64$, $N=49$).

Dans l'analyse regroupant hommes et femmes, le statut fumeur module aussi les volumes de cerveau entier à l'entrée dans l'étude, les fumeurs actifs ayant un volume de SB plus faible que les non-fumeurs (différence de volume= 0.13 u.s., $p=0.0043$), et les anciens fumeurs ayant un volume de CE plus petit que les non-fumeurs (différence de volume= 0.053 u.s., $p=0.046$). L'interaction statut fumeur*sexe n'est pas significative ($p=0.74$).

	Hommes		Femmes		Groupés	
	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value
Statut fumeur		0.057		0.12		0.007
Sexe	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0.081	0.043
Sexe*StFumeur	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		0.74
Âge	-0.19	<10 ⁻⁴	-0.26	<10 ⁻⁴	-0.19	<10 ⁻⁴
ApoE4	0.081	0.061	-0.012	0.77	0.027	0.28
Alcool	-0.043	0.025	-0.025	0.12	-0.036	0.002
IMC	0.011	0.58	0.023	0.18	0.017	0.12
CES-D	0.032	0.088	-0.023	0.15	-0.0058	0.58
Cholestérolémie	0.0087	0.64	-0.030	0.065	-0.012	0.26
Éducation	-0.070	0.0004	-0.036	0.038	-0.042	<10 ⁻⁴
Glycémie	-0.077	<10 ⁻⁴	-0.023	0.17	-0.038	0.0004
MMSE	-0.0024	0.90	-0.0031	0.86	-0.0013	0.91
PAS	-0.011	0.66	0.035	0.11	0.015	0.30
PAD	0.0083	0.74	-0.018	0.41	-0.0075	0.60
HSB	-0.015	0.42	-0.010	0.54	-0.0091	0.38
VTI	0.86	<10 ⁻⁴	0.83	<10 ⁻⁴	0.89	<10 ⁻⁴

Table 12 : Analyse transversale des effets de la consommation de tabac et des autres covariables sur le volume de cerveau entier. Les tailles d'effet sont en unité standardisée. Pour les effets du statut fumeur, voir Figure 27 p133. La taille d'effet pour ApoE4 correspond à la différence entre porteurs et non-porteurs. La P-value est le niveau de significativité. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche, VTI : volume total intracrânien, n.a. : non applicable.

B. Substance grise

Ici, les profils de perte des hommes et des femmes étaient très différents. Le statut tabac a eu un effet significatif sur le volume de SG chez les hommes mais pas chez les femmes (p=0.039 et p=0.92 respectivement, Table 13). Les hommes continuant à fumer à l'entrée dans l'étude avaient un volume de SG plus petit que les anciens fumeurs et que les non-fumeurs (p=0.011 et p=0.047 respectivement, tests post-hoc, Figure 27), alors qu'il n'y avait pas de différence entre les deux derniers (p=0.23, test post-hoc). La taille de l'effet chez les hommes (0.25 unité standard [u.s.], pour la différence entre fumeurs actifs et non-fumeurs) était similaire à celle de l'âge (0.25 u.s., Figure 29) et bien plus grande que celles des autres covariables (en dehors de celle du VTI). Cette réduction du volume de SG chez les hommes fumeurs actifs n'était pas significativement corrélée avec la variable paquets-années (pente de régression=-0.035, p=0.64, N=49).

	Hommes		Femmes		Groupés	
	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value
Statut fumeur		0.039		0.92		0.11
Sexe	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0.12	0.031
Sexe*StFumeur	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		0.16
Âge	-0.25	<10⁻⁴	-0.35	<10⁻⁴	-0.28	<10⁻⁴
ApoE-e ₄	0.13	0.025	-0.028	0.60	0.038	0.27
Alcool	-0.0078	0.76	-0.030	0.15	-0.022	0.17
IMC	-0.013	0.62	-0.0072	0.74	-0.0071	0.64
CES-D	0.00059	0.98	-0.037	0.083	-0.024	0.095
Cholestérolémie	-0.0079	0.75	-0.020	0.34	-0.012	0.40
Éducation	-0.031	0.23	0.015	0.50	-0.0033	0.83
Glycémie	-0.076	0.003	-0.028	0.20	-0.041	0.005
MMSE	0.033	0.21	0.025	0.26	0.024	0.10
PAS	-0.015	0.65	0.043	0.14	0.019	0.33
PAD	-0.010	0.76	-0.032	0.26	-0.023	0.23
HSB	-0.092	0.0003	-0.090	<10⁻⁴	-0.078	<10⁻⁴
VTI	0.74	<10⁻⁴	0.65	<10⁻⁴	0.75	<10⁻⁴

Table 13: Analyse transversale des effets de la consommation de tabac et des autres covariables sur le volume de SG. Les tailles d'effet sont en unité standardisée. Pour les effets du statut fumeur, voir Figure 27 p133. La taille d'effet pour ApoE-e₄ correspond à la différence entre porteurs et non-porteurs. La P-value est le niveau de significativité. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche, VTI : volume total intracrânien, n.a. : non applicable.

Grouper ici les hommes et les femmes mène à la perte de l'observation de différence entre les groupes de fumeurs et celui de non-fumeurs, ici encore l'interaction statut fumeur*sexe n'est pas significative (p=0.16).

C. Substance Blanche

Le volume de substance blanche à l'entrée dans l'étude a été trouvé significativement dépendant du statut fumeur chez les femmes (p=0.015, Table 14) mais pas chez les hommes (p=0.71). Les femmes non fumeuses avaient un volume de SB plus important que les fumeuses actives (p=0.020, test post-hoc, Figure 27) alors que la différence avec les anciennes fumeuses était proche de la significativité (p=0.055, test post-hoc). La taille de l'effet était ici encore similaire à celle de l'âge (0.11 u.s., Figure 29) et bien plus grande que celles des autres covariables (sauf VTI). De plus, cette perte

chez les fumeuses actives et anciennes fumeuses était presque linéairement corrélée avec paquets-années (pente de régression=-0.077, p=0.062, N=162).

	Hommes		Femmes		Groupés	
	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value
Statut fumeur		0.71		0.015		0.039
Sexe	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0.034	0.47
Sexe*StFumeur	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		0.55
Âge	-0.11	<10⁻⁴	-0.11	<10⁻⁴	-0.089	<10⁻⁴
ApoE4	0.020	0.71	0.0060	0.90	0.012	0.68
Alcool	-0.069	0.004	-0.014	0.43	-0.044	0.002
IMC	0.032	0.19	0.048	0.011	0.037	0.004
CES-D	0.057	0.016	-0.0048	0.79	0.012	0.32
Cholestérolémie	0.023	0.32	-0.033	0.066	-0.0097	0.43
Éducation	-0.095	<10⁻⁴	-0.079	<10⁻⁴	-0.073	<10⁻⁴
Glycémie	-0.065	0.007	-0.013	0.48	-0.030	0.018
MMSE	-0.036	0.14	-0.030	0.11	-0.025	0.048
PAS	-0.0050	0.88	0.020	0.42	0.0088	0.61
PAD	0.025	0.43	-0.00028	0.99	0.0086	0.61
HSB	0.061	<10⁻⁴	0.071	<10⁻⁴	0.057	<10⁻⁴
VTI	0.82	0.010	0.85	<10⁻⁴	0.89	<10⁻⁴

Table 14: Analyse transversale des effets de la consommation de tabac et des autres covariables sur le volume de SB. Les tailles d'effet sont en unité standardisée. Pour les effets du statut fumeur, voir Figure 27 p133. La taille d'effet pour ApoE4 correspond à la différence entre porteurs et non-porteurs. La P-value est le niveau de significativité. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche, VTI : volume total intracrânien, n.a. : non applicable.

Dans l'analyse de l'échantillon groupé nous retrouvons l'effet de la consommation de tabac sur le volume de substance blanche. La différence se situe entre le groupe de fumeurs actifs et le groupe de non-fumeurs avec un volume réduit dans le premier groupe (différence de volume= 0.13 u.s., p= 0.023). L'interaction statut fumeur*sexe n'est pas significative (p=0.55).

D. Hippocampe

Le volume de l'hippocampe à l'entrée dans l'étude était modulé par le statut fumeur chez les femmes (p=0.028, Table 15) mais pas chez les hommes (p=0.89). Plus spécifiquement, les femmes anciennes fumeuses avaient un plus petit volume de HIP que

les non fumeuses ($p=0.008$, test post-hoc, Figure 27), alors que le groupe de fumeuses actives ne différait pas des deux autres ($p=0.56$ et $p=0.43$ pour les comparaisons avec les non fumeuses et les fumeuses actives respectivement). La taille de l'effet (0.16 u.s. entre les anciennes fumeuses et les non fumeuses) était du même ordre de magnitude que celle de l'âge (0.15, Figure 29) et bien plus large que celles des autres covariables (sauf VTI). De plus, une corrélation linéaire très significative était trouvée entre la perte de HIP chez les anciennes fumeuses et paquets-années (pente de régression= -0.0072 , $p=0.0014$, $N=128$, Figure 28 p135).

	Hommes		Femmes		Groupés	
	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value
Statut fumeur		0.89		0.028		0.31
Sexe	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	-0.052	0.38
Sexe*StFumeur	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		0.12
Âge	-0.12	0.0001	-0.15	$<10^{-4}$	-0.12	$<10^{-4}$
ApoE4	-0.13	0.047	-0.069	0.20	-0.095	0.013
Alcool	-0.055	0.054	0.043	0.039	-0.012	0.48
IMC	0.049	0.098	0.022	0.31	0.029	0.084
CES-D	-0.052	0.065	-0.045	0.030	-0.044	0.006
Cholestérolémie	-0.025	0.38	-0.025	0.22	-0.022	0.16
Éducation	0.029	0.31	-0.031	0.17	-0.0042	0.80
Glycémie	-0.042	0.14	-0.019	0.36	-0.029	0.073
MMSE	-0.032	0.28	-0.00063	0.98	-0.011	0.51
PAS	0.030	0.44	0.026	0.36	0.023	0.30
PAD	-0.0085	0.82	-0.034	0.24	-0.019	0.38
HSB	-0.043	0.13	-0.045	0.033	-0.041	0.009
SG	0.72	$<10^{-4}$	0.71	$<10^{-4}$	0.75	$<10^{-4}$

Table 15 : Analyse transversale des effets de la consommation de tabac et des autres covariables sur le volume d'HIP. Les tailles d'effet sont en unité standardisée. Pour les effets du statut fumeur, voir Figure 27 p133. La taille d'effet pour ApoE4 correspond à la différence entre porteurs et non-porteurs. La P-value est le niveau de significativité. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche, SG: volume de substance grise, n.a. : non applicable.

Pour l'analyse de l'hippocampe, grouper les hommes et les femmes ensemble a mené à la perte de l'effet de la consommation de tabac sur son volume à l'entrée dans l'étude. L'interaction statut fumeur*sexe n'est pas significative ($p=0.12$).

E. Ganglions de la base.

Une seule région des ganglions de la base avait son volume à l'entrée dans l'étude modulé par le tabac : le putamen chez les hommes uniquement ($p=0.010$, $p=0.98$ pour les femmes). Les tests post-hoc ont montré que le groupe d'anciens fumeurs avait un volume plus petit que le groupe de non-fumeurs ($\Delta=-0.25$ u.s., $p=0.0026$). Le groupe de fumeurs actifs ne différait pas des deux autres groupes ($p=0.14$ et $p=0.74$ pour les comparaisons avec le groupe de non-fumeurs et d'anciens fumeurs respectivement). Le volume à l'entrée dans l'étude du putamen n'était pas corrélé avec la variable paquets-années (pente de régression= -0.0034 ± 0.0027 , $p=0.21$). Les autres régions des ganglions de la base (CAU, PAL et THA) n'étaient pas significativement associées avec le statut tabac des participants hommes ($p=0.25$, $p=0.19$ et $p=0.66$ respectivement) ou femmes ($p=0.82$, $p=0.93$ et $p=0.66$ respectivement).

En regroupant les hommes et les femmes dans les analyses sur les volumes des ganglions de la base, celui du putamen était retrouvé modulé par le statut fumeur ($p=0.033$) alors que ce n'était pas le cas des autres régions ($p=0.57$, $p=0.46$ et $p=0.88$ pour CAU, PAL et THA respectivement). L'effet sur le volume du putamen était dû à un volume réduit dans le groupe d'anciens fumeurs par rapport au groupe de non-fumeurs ($\Delta=0.14$ u.s., $p=0.013$), le groupe de fumeurs actifs ne différait pas des deux autres groupes ($p=0.17$ et $p=0.96$ pour les comparaisons avec les non-fumeurs et anciens fumeurs respectivement). Pour cette analyse, l'interaction statut fumeur*sexe était significative ($p=0.018$) et indiquait la présence de l'effet chez les hommes et non chez les femmes, en accords avec les analyses séparées.

F. Autres covariables.

A l'entrée dans l'étude, nous avons trouvé de forts effets de l'âge et du VTI (respectivement volume de SG) sur les volumes de CE, SG et SB (respectivement HIP), à la fois chez les hommes et les femmes (Figure 29, Tables 12, 13, 14 et 15). Le VTI et l'âge ont eu les effets les plus importants de toutes les covariables. La charge en hyperintensités de la substance blanche a eu des effets similaires sur les deux sexes à l'entrée dans l'étude : association positive avec le volume de SB et négative avec SG, résultant en une absence d'effet sur CE.

Les autres covariables avaient des effets moindres et généralement moins significatifs que le VTI ou l'âge. Le niveau d'éducation était négativement associé avec le volume à l'entrée dans l'étude de CE et de SB, à la fois chez les hommes et chez les femmes (Tables 12 et 14). Les participants masculins portant un ou deux allèles e4 de l'apolipoprotéine E avaient significativement un plus grand volume de SG par rapport aux non porteurs, tout en ayant un volume de HIP plus petit. Chez les hommes, la consommation d'alcool était associée avec une réduction des volumes de CE et SB à l'entrée dans l'étude, et chez les femmes, l'alcool était associé avec une augmentation du volume de l'HIP à l'entrée dans l'étude. La glycémie était significativement et négativement associée aux volumes de CE, SG et SB à l'entrée dans l'étude chez les hommes mais pas les femmes. Les autres covariables avaient soit peu d'effet (BMI et CES-D) soit aucun effet (MMSE, cholestérol et les deux pressions sanguines).

Grouper les hommes et les femmes a conduit en des résultats très similaires, la plus grande taille d'échantillon permettant à certains de passer le seuil de significativité (voir par exemple l'effet du MMSE sur le volume de SB à l'entrée dans l'étude). Dans de rares cas, où la covariable avait un effet opposé entre les hommes et les femmes, des résultats discordants sont observés entre les analyses stratifiées pour le sexe et l'analyse groupée (voir notamment l'effet de ApoE4 sur le volume à l'entrée de l'étude de SG, de l'alcool sur le volume de l'HIP à l'entrée ou sur l'effet de l'âge sur la vitesse annualisée de changement de volume de SB).

2. DISCUSSION

A. Cerveau entier

Dans notre étude, les hommes continuant à fumer après 65 ans avaient une forte tendance de réduction du volume de CE à l'entrée par rapport aux non-fumeurs. Ce résultat est en accord avec ceux de Ikram *et al.* (2008) et Hoogendam *et al.* (2012) qui ont rapporté une réduction du volume de CE chez les fumeurs actuels uniquement. Cette différence n'était pas rapportée par les auteurs des autres études transversales (Enzinger *et al.*, 2005 ; Durazzo *et al.*, 2012), probablement à cause du faible échantillon et du manque de puissance statistique associé.

Chez les femmes, nous n'avons pas trouvé d'association significative entre le statut fumeur et le volume de CE. Lorsque l'on regarde de plus près le profil des volumes de CE dans les groupes de fumeuses, on voit que celui-ci est similaire à celui des hommes, mais avec une amplitude plus faible et sans atteindre la significativité. L'échantillon des fumeuses actives plus petit que celui des hommes fumeurs actifs ($n=26$ vs. $N=37$), ainsi qu'un effet légèrement plus faible, peuvent expliquer cette absence de significativité chez les femmes. Mais cela peut aussi être expliqué par les différences de consommation de tabac entre les deux sexes (plus importante chez les hommes) et aussi possiblement aux effets spécifiques des traitements hormonaux de substitution post-ménopause sur l'atrophie cérébrale chez les femmes (Ryan *et al.*, 2014).

Grouper les hommes et les femmes nous aurait amené à conclure à un effet sexe-indépendant de la consommation de tabac sur le volume de CE à l'entrée dans l'étude, tel que rapporté par Ikram *et al.* (2008) et Hoogendam *et al.* (2012). Cela aurait aussi mené à faire la même erreur pour les volumes de SG, SB, HIP et PUT, car bien que nous retrouvions les effets dans les analyses groupées, l'interaction statut tabac/sexe n'a jamais indiqué de différence statistique entre les deux sexes pour les effets de la consommation de tabac.

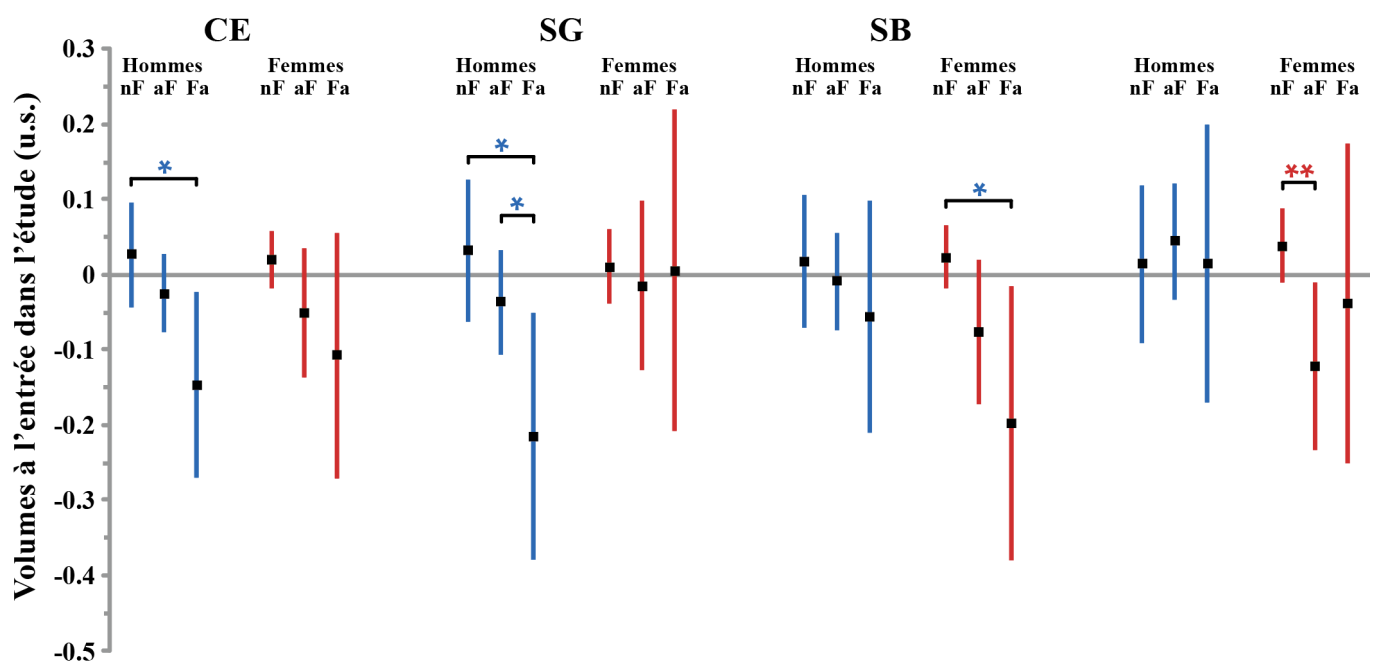


Figure 27 : Taille (et intervalle de confiance à 95%) en unité standardisée (u.s.) des effets de la consommation de tabac sur les volumes des phénotypes cérébraux à l'entrée dans l'étude chez les hommes (barres bleues) et les femmes (barres rouges). CE : cerveau entier (SG+SB), SG : substance grise, SB : substance blanche, HIP : hippocampe bilatéral. nF : non-fumeurs, aF : anciens fumeurs, Fa : fumeurs actifs. Niveaux de significativité pour les t-test post-hoc des différences entre les différents groupes de statut fumeur * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$.

B. Substance grise et substance blanche

En fait, de façon opposée à l'analyse sur le volume de CE, celle sur le volume de SG montre des profils clairement distincts entre les hommes et les femmes. Le volume de SG à l'entrée dans l'étude était modifié par le statut fumeur chez les hommes mais pas chez les femmes, le volume étant plus petit chez les fumeurs actifs en comparaison des anciens fumeurs ou non-fumeurs. Au contraire, les volumes de SB à l'entrée dans l'étude étaient eux aussi modulés par le statut fumeur mais uniquement chez les femmes ; l'effet était dû encore au groupe de fumeuses actives ayant un plus faible volume que les groupes d'anciennes fumeuses ou de non fumeuses. Parmi les auteurs des six études citées dans la Table 7, Ikram *et al.* (2008) sont les seuls ayant cherché des effets spécifiques au volume de SG et de SB séparément, ne rapportant qu'un effet sur le volume de CE et pas de SG ou de SB et aucune interaction du sexe avec le statut fumeurs, mentionnant uniquement que l'effet du tabac était plus associé à la SB qu'à la SG. D'autres auteurs se sont intéressés aux effets de la consommation de tabac sur la substance grise (Brody *et al.*, 2004a; Gallinat *et al.*, 2006; Fritz *et al.*, 2014) ou blanche (Yu *et al.*, 2011; Fritz *et al.*, 2014), mais ils ont rapporté des effets sur des structures spécifiques plutôt que sur les volumes globaux. Ainsi, des études complémentaires sont requises afin de confirmer et expliquer ces différences dans les effets de la consommation de tabac sur les volumes de SG et SB entre les hommes et les femmes. Chez les hommes et les femmes, les effets de la consommation de tabac étaient apparents dans le groupe de fumeurs encore actifs à l'entrée dans l'étude alors que les anciens fumeurs ne semblaient pas affectés par les effets quand ils étaient comparés aux non-fumeurs. Conséquemment, grouper les anciens fumeurs avec les fumeurs actuels, comme fait dans l'étude de Durazzo *et al.* (2012) et Enzinger *et al.* (2005), est susceptible de cacher ces effets. Ce profil, en accord avec les études de Ikram *et al.* (2008) et Hoogendam *et al.* (2012), montrant un effet sur le volume de CE à l'entrée chez les fumeurs actuels uniquement, est susceptible d'être dû à la plus grande durée de consommation et à la plus grande valeur de paquets-années observés dans les groupes de fumeurs actuels, ce qui suggèrent un seuil de consommation au delà duquel les effets délétères prennent place.

C. Hippocampe

Le volume de l'HIP à l'entrée dans l'étude était affecté par le statut fumeur seulement chez les femmes, les anciennes fumeuses ayant un volume significativement inférieur à celui des non fumeuses, les fumeuses actives ayant un volume plus petit mais

non significativement par rapport aux non fumeuses. De plus, une corrélation linéaire négative très significative a été trouvée entre le volume de l'HIP à l'entrée dans l'étude des anciennes fumeuses et la variable paquets-années. Il faut rappeler que dans les analyses, le volume de l'HIP est ajusté pour le volume total de SG. L'absence d'effet chez les hommes signifie que la consommation de tabac n'a pas d'effet spécifique sur le volume de l'HIP en comparaison à l'effet observé sur le volume total. Inversement, chez les femmes le volume de SG n'est pas affecté alors que l'HIP est spécifiquement vulnérable à la consommation de tabac.

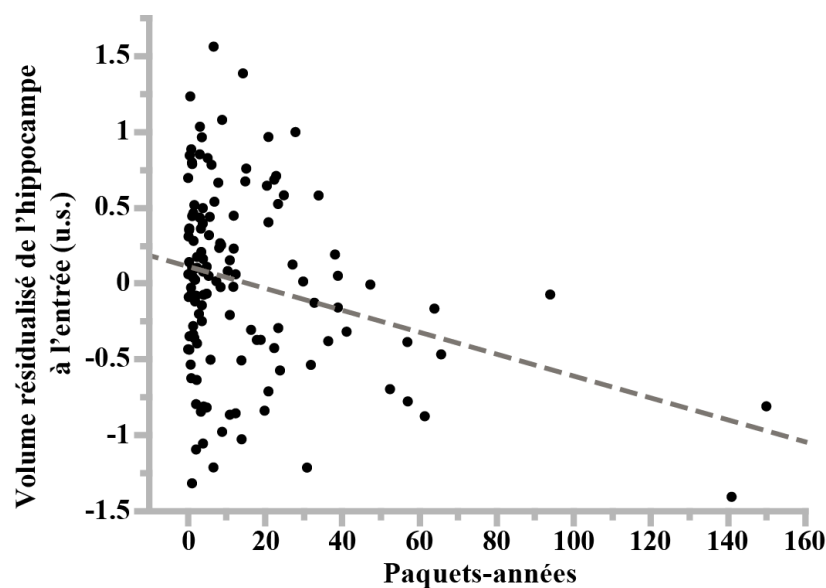


Figure 28 : tracé de la régression linéaire du volume de l'hippocampe à l'entrée dans l'étude (valeurs résiduelles en unité standardisée, u.s.) en fonction de la consommation cumulée de tabac exprimée en paquets-années (produit du nombre d'années de consommation par le nombre de paquets consommés par jour) chez les femmes anciennes fumeuses. Pente de la droite de régression : -0.0072 , $p=0.0014$, $N=128$.

A notre connaissance, un tel résultat n'a pas encore été rapporté, les effets de la consommation de tabac ayant été peu étudiés sur l'HIP, Durazzo *et al.* (2012) étant les seuls auteurs sur le sujet ayant inclus l'HIP dans leurs régions d'intérêt. Mais dans cette étude 1) il n'y a pas eu d'association entre le tabac et le volume de l'HIP, 2) l'interaction entre le sexe et la consommation de tabac n'était pas incluse dans les analyses. Dans une étude plus récente avec un échantillon de 82 adultes jeunes et d'âge moyen [22-69] (Durazzo *et al.*, 2013), les mêmes auteurs ont rapporté un volume de l'HIP plus petit (ainsi que ses sous-champs, CA1 et CA2-3) chez leurs sujets fumeurs. Mais leur échantillon ne comportait que 6 femmes fumeuses, ce qui limitait la possibilité de tester une interaction entre le sexe et le statut fumeur. Les résultats d'autres études basées sur des analyses en VBM (Brody *et al.*, 2004a; Gallinat *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2011; Fritz *et al.*, 2014) n'ont pas montré d'effet du tabac sur l'HIP, mais elles étaient basées sur des échantillons de

petite taille ($N < 50$) de jeunes participants (incluant de jeunes adultes et des adultes d'âges moyens) et n'ont pas inclus d'interaction pour le sexe.

D. Ganglions de la base.

Parmi les régions des ganglions de la base incluses dans nos analyses, seul le volume à l'entrée dans l'étude du putamen chez les hommes était modulé par la consommation de cigarettes. Cet effet était dû à un volume plus faible chez les anciens fumeurs par rapport aux non-fumeurs. Comme pour les analyses de l'hippocampe, celles des ganglions de la base ont été effectuées avec la SG comme covariable. Le putamen semble donc spécifiquement touché par la consommation de tabac par rapport à l'effet observé globalement sur la SG chez les hommes. Dans la littérature, nous n'avons trouvé qu'une seule publication incluant des ganglions de la base comme régions d'intérêts dans des analyses volumétriques sur la consommation de tabac chez des sujets âgés (Brody *et al.*, 2004a), ne rapportant aucune association. Parmi les auteurs des études en VBM, certains ont rapporté une réduction chez les fumeurs pour le thalamus (Gallinat *et al.*, 2006; Almeida *et al.*, 2008; Liao *et al.*, 2010; Franklin *et al.*, 2014), une augmentation pour le putamen (Yu *et al.*, 2011; Franklin *et al.*, 2014) alors que d'autres n'ont pas rapporté d'effet pour les ganglions de la base (Zhang *et al.*, 2011b; Morales *et al.*, 2012). Il semble important de noter que parmi ces études, une seule concerne les sujets âgés (Almeida *et al.*, 2008) alors que l'âge moyen dans les autres ne dépasse pas 42 ans. De plus, toutes ont des échantillons en dessous de 100 participants sauf celle de Franklin *et al.* (2014) qui en comporte 160. Des auteurs cités précédemment (Das *et al.*, 2012) utilisant la *Surface Based Morphometry* n'ont pas rapporté de différence entre le statut fumeur mais des associations de la variable paquets-années, négativement avec le volume du noyau accumbens gauche et positivement avec le volume du putamen gauche chez 315 sujets âgés. Or, leurs résultats montrent l'absence de différence entre les groupes de fumeurs, cela ajouté au fait que la régression de la variable paquets-années sur les volumes ait été faite avec les sujets non-fumeurs amène à prendre les résultats de cette étude avec précaution.

Si l'on écarte la dernière étude citée, il semble qu'en lien avec la consommation de tabac le volume du putamen augmente chez l'adulte d'âge moyen avant de décroître en fin de vie, ce dernier résultat demandant réplification dans une autre population.

E. Autres covariables

Alors que le focus de cette étude est sur la consommation de tabac et ses effets sur les volumes cérébraux chez des sujets âgés sains, nous discuterons brièvement des effets observés avec les autres covariables incluses dans les analyses. De plus, les effets de certaines d'entre elles sur cette cohorte ont déjà été rapportés ailleurs, tel que pour l'âge (Crivello *et al.*, en révision), l'ApoE4 (Crivello *et al.*, 2010), la dépression (Elbejjani *et al.*, 2014) et les HSB (Godin *et al.*, 2009). À l'exception de l'âge et du VTI, les tailles d'effets des covariables étaient moindres que celles associées avec le statut fumeur.

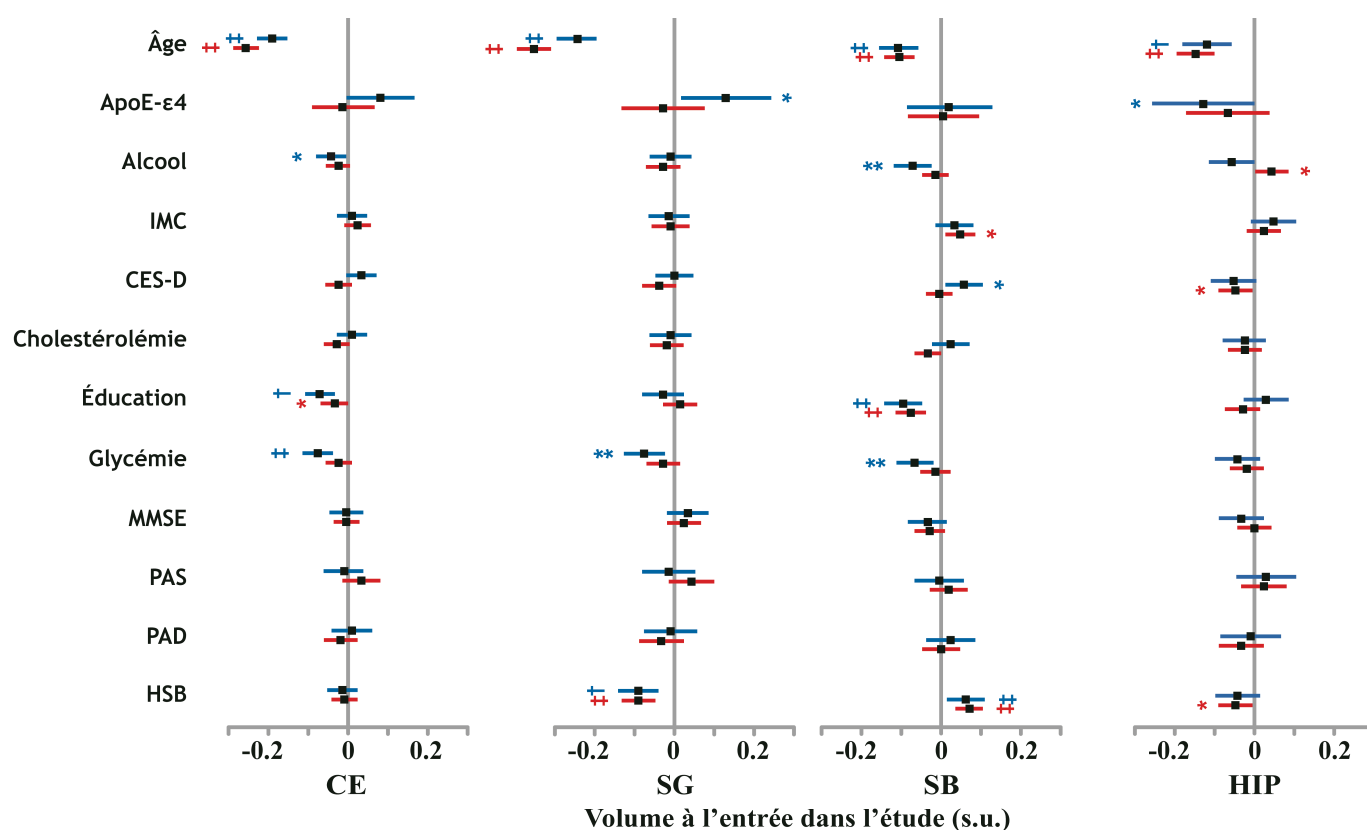


Figure 29: Taille (et intervalle de confiance à 95%) en unité standardisée (u.s.) des effets des covariables sur volumes des phénotypes cérébraux à l'entrée dans l'étude chez les hommes (barres bleues) et les femmes (barres rouges). CE : cerveau entier (SG+SB), SG : substance grise, SB : substance blanche, HIP : hippocampe bilatéral. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche. Niveaux de significativité pour les t-test post-hoc des différences entre les différents groupes de statut fumeur * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, † : $p < 0.001$, ‡ : $p < 0.0001$.

a- L'alcool

Dans notre étude, la consommation d'alcool était associée avec une augmentation de l'atrophie cérébrale, significative pour la SG et la SB chez les hommes uniquement. Cela correspond aux résultats rapportés par les auteurs d'études précédentes montrant un effet délétère de l'alcool sur l'atrophie cérébrale dans les deux sexes (Hommer *et al.*, 2001; Mukamal *et al.*, 2001; Demirakca *et al.*, 2011) ou plus marqué chez les hommes que chez les femmes (Pfefferbaum *et al.*, 2001; Anstey *et al.*, 2006). Quand à l'hippocampe, la tendance à une atrophie accrue associée à l'alcool est en accord avec les études précédentes (Harding *et al.*, 1997; Pfefferbaum *et al.*, 2001; Anstey *et al.*, 2006; Demirakca *et al.*, 2011). Dans notre étude, les effets furent observés chez les hommes uniquement, ce qui peut s'expliquer par la grande différence dans la prise d'alcool entre les deux sexes. Chez les femmes, le volume de l'HIP à l'entrée dans l'étude avait une atrophie réduite avec la consommation d'alcool, ce qui peut s'expliquer par la réduction des risques cardio-vasculaires associée à une consommation modérée d'alcool (Tolstrup *et al.*, 2006).

Dans une étude récente (Durazzo *et al.*, 2014) les auteurs ont montré une interaction entre la consommation d'alcool, la consommation de tabac sur les volumes de régions d'intérêt (BREOS, lobule pariétal supérieur, cortex préfrontal dorsal). Mais cette interaction ne montrait pas des effets additifs ou multiplicatifs de l'alcool et du tabac sur les pertes de volumes, les non-fumeurs alcooliques de l'étude ayant des pertes plus rapides que les sujets fumeurs actifs alcooliques.

b- Glycémie

Dans notre étude, l'augmentation de la glycémie était associée à une augmentation de l'atrophie de SG et SB, l'association n'étant significative que chez les hommes. Ces résultats sont consistants avec les résultats des études précédentes montrant une atrophie accélérée de CE avec une augmentation de la glycémie (Araki *et al.*, 1994; Ikram *et al.*, 2008; Hoogendam *et al.*, 2012) ou de l'hémoglobine glyquée A (HbA1c ; Enginger *et al.*, 2005).

c- Indice de masse corporelle

L'IMC était positivement associé avec le volume de SB, mais pas de SG, l'association étant significative uniquement chez les femmes. Ces résultats sont en accord avec ceux de Hatia *et al.* (2007) qui montre une augmentation du volume de SB chez de jeunes adultes

obèses, l'effet étant partiellement inversé lors d'une diète. L'absence d'effet de l'IMC sur le volume de SG a aussi été rapportée par deux groupes (Haltia *et al.*, 2007; Debette *et al.*, 2014). Nous notons malgré tout que les auteurs de deux études récentes ont rapporté des résultats différents, une augmentation du score BrainAge avec l'IMC spécialement chez les hommes (Franke *et al.*, 2014) ainsi qu'une réduction de l'atrophie de SG avec une augmentation de l'IMC (Bobb *et al.*, 2014).

d- Niveau d'éducation

Nous avons trouvé le niveau d'éducation négativement associé au volume de SB à l'entrée, mais pas de SG, pour les deux sexes, en accord avec les résultats des études précédentes sur des individus de haut niveau d'étude ayant une augmentation du volume du LCR sulcal (Coffey *et al.*, 1999; Longstreth Jr. *et al.*, 2000) et une épaisseur corticale diminuée au niveau temporal, occipital et pariétal ainsi qu'un volume hippocampique plus petit (Pillai *et al.*, 2012). Le niveau d'éducation en revanche n'a été associé dans aucune des analyses longitudinales. Nos résultats plaident en faveur de l'hypothèse que l'éducation influence la réserve cognitive au travers de l'efficacité de la connectivité et/ou des synapses plutôt qu'au travers du nombre, c'est à dire la préservation du nombre de neurones et donc de la préservation des volumes.

3. CONCLUSION

Cette étude a permis de montrer l'existence d'une atteinte différentielle des tissus cérébraux chez l'homme et chez la femme par la consommation de cigarettes. L'effet similaire observé sur le volume de cerveau entier cache en réalité une atteinte de la substance grise chez l'homme et une atteinte de la substance blanche chez la femme. Si les effets n'étaient pas corrélés avec la variable paquets-années sur les volumes globaux, il y a un effet « dose » visible entre les groupes d'anciens fumeurs et les groupes de fumeurs actifs (Figure 27), ces derniers étant plus impactés que les premiers et ne différant des anciens fumeurs que par des variables liées aux tabac qui sont plus élevées (durée de consommation et cumul total).

Concernant les régions d'intérêt nous avons vu que le putamen chez les hommes et l'hippocampe chez les femmes sont impactés par la consommation de tabac. Ici, bien que les fumeuses actives n'avaient pas d'effet apparent de la consommation de tabac sur le volume hippocampique, l'effet chez les anciennes fumeuses était corrélé avec la consommation en paquets-années.

III. ETUDE LONGITUDINALE

1. RÉSULTATS

A. Cerveau entier

La vitesse de perte annualisée de CE est significativement modulée par le statut fumeur chez les hommes uniquement ($p=0.034$ et $p=0.12$ respectivement, Table 16), bien que les deux sexes présentaient des profils similaires (Figure 30 p147). Chez les hommes, les fumeurs actifs avaient une vitesse annualisée d'atrophie supérieure à la fois à celle des anciens fumeurs ($p=0.0094$, test post-hoc) et non-fumeurs ($p=0.031$, test post-hoc). Mais la vitesse annualisée d'atrophie chez les hommes fumeurs actifs n'était pas corrélée à paquets-années (pente de régression=-0.20, $p=0.10$, $N=37$).

Les profils similaires chez les hommes et les femmes font que l'analyse groupée indique une modulation de la vitesse d'atrophie du cerveau entier par le statut fumeur. Les fumeurs actifs avaient une vitesse d'atrophie plus importante que les anciens fumeurs (différence de vitesse=0.34 u.s., $p=0.014$) ou les non-fumeurs (différence de vitesse=0.45 u.s., $p=0.001$). L'interaction statut fumeur*sexe n'était pas significative ($p=0.68$).

	Hommes		Femmes		Groupés	
	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value
Statut fumeur		0.034		0.12		0.005
Sexe	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0.34	0.005
Sexe*StFumeur	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		0.68
Âge	-0.016	0.77	0.098	0.011	0.064	0.039
ApoE4	-0.10	0.39	-0.084	0.37	-0.11	0.15
Alcool	0.023	0.66	0.076	0.041	0.066	0.055
IMC	0.045	0.40	0.0034	0.93	0.010	0.75
CES-D	0.047	0.35	0.013	0.73	0.021	0.50
Cholestérolémie	-0.083	0.10	0.031	0.41	-0.0060	0.84
Éducation	-0.038	0.46	0.049	0.21	0.015	0.63
Glycémie	-0.029	0.57	-0.10	0.009	-0.066	0.034
MMSE	-0.083	0.12	-0.00026	0.99	-0.026	0.41
PAS	-0.0059	0.93	-0.076	0.14	-0.060	0.16
PAD	-0.0031	0.97	0.082	0.10	0.057	0.17
HSB	0.0073	0.88	0.040	0.28	0.032	0.29
VTI	-0.17	0.0011	-0.13	0.0007	-0.18	<10⁻⁴

Table 16 : Analyse longitudinale des effets de la consommation de tabac et des autres covariables sur la vitesse annualisée de variation du volume de cerveau entier. Les tailles d'effet sont en unité standardisée. Pour les effets du statut fumeur, voir Figure 30 p147. La taille d'effet pour ApoE4 correspond à la différence entre porteurs et non-porteurs. La P-value est le niveau de significativité. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche, VTI : volume total intracrânien, n.a. : non applicable.

B. Substance grise

Concernant la vitesse annualisée de changement de SG, nous avons trouvé qu'elle n'était modifiée par le statut fumeur ni chez les hommes, ni chez les femmes ($p=0.57$ et $p=0.55$ respectivement, Table 17).

	Hommes		Femmes		Groupés	
	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value
Statut fumeur		0.57		0.55		0.23
Sexe	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0.48	<10⁻⁴
Sexe*StFumeur	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		0.93
Âge	-0.062	0.25	0.072	0.066	0.034	0.28
ApoE4	-0.15	0.20	-0.10	0.29	-0.14	0.065
Alcool	-0.053	0.30	0.079	0.036	0.020	0.55
IMC	0.0065	0.90	0.039	0.33	0.022	0.49
CES-D	0.097	0.059	0.028	0.46	0.046	0.14
Cholestérolémie	-0.083	0.10	0.062	0.10	0.011	0.71
Éducation	-0.020	0.70	0.020	0.61	0.0049	0.88
Glycémie	-0.032	0.53	-0.079	0.043	-0.054	0.082
MMSE	-0.087	0.10	-0.0037	0.92	-0.027	0.38
PAS	0.025	0.73	-0.034	0.52	-0.020	0.64
PAD	-0.049	0.49	0.028	0.58	0.0060	0.89
HSB	-0.034	0.51	0.00072	0.98	-0.0077	0.80
VTI	-0.18	0.001	-0.075	0.047	-0.14	0.0002

Table 17 : Analyse longitudinale des effets de la consommation de tabac et des autres covariables sur la vitesse annualisée de variation du volume de SG. Les tailles d'effet sont en unité standardisée. Pour les effets du statut fumeur, voir Figure 30. La taille d'effet pour ApoE4 correspond à la différence entre porteurs et non-porteurs. La P-value est le niveau de significativité. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche, VTI : volume total intracrânien, n.a. : non applicable.

Grouper les hommes et les femmes n'a pas changé l'absence d'association entre le statut fumeur et la vitesse d'atrophie de SG. L'interaction statut fumeur*sex n'était pas significative ($p=0.93$).

A. Substance blanche

Il n'y avait pas de relation entre la vitesse de changement annualisée du volume de SB chez les femmes ou les hommes ($p=0.47$ et $p=0.10$ respectivement, Table 18) et le statut fumeur.

	Hommes		Femmes		Groupés	
	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value
Statut fumeur		0.10		0.47		0.12
Sexe	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	-0.22	0.079
Sexe*StFumeur	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		0.78
Âge	0.068	0.21	0.033	0.41	0.038	0.22
ApoE4	0.084	0.48	0.026	0.79	0.049	0.51
Alcool	0.11	0.041	-0.0060	0.87	0.059	0.088
IMC	0.052	0.35	-0.048	0.23	-0.017	0.59
CES-D	-0.076	0.15	-0.021	0.59	-0.036	0.25
Cholestérolémie	0.0084	0.87	-0.043	0.25	-0.024	0.44
Éducation	-0.023	0.67	0.038	0.34	0.013	0.68
Glycémie	0.0070	0.89	-0.027	0.50	-0.012	0.70
MMSE	0.014	0.80	0.0047	0.90	0.0041	0.90
PAS	-0.044	0.55	-0.055	0.29	-0.052	0.23
PAD	0.068	0.35	0.070	0.17	0.068	0.11
HSB	0.059	0.26	0.053	0.17	0.053	0.083
VTI	0.019	0.72	-0.067	0.081	-0.044	0.26

Table 18: Analyse longitudinale des effets de la consommation de tabac et des autres covariables sur la vitesse annualisée de variation du volume de SB. Les tailles d'effet sont en unité standardisée. Pour les effets du statut fumeur, voir Figure 30. La taille d'effet pour ApoE4 correspond à la différence entre porteurs et non-porteurs. La P-value est le niveau de significativité. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche, VTI : volume total intracrânien, n.a. : non applicable.

Les résultats de l'analyse groupée sur la vitesse d'atrophie de substance blanche donne la même observation que pour la vitesse d'atrophie de substance grise. L'interaction statut fumeur*sexe n'était pas significative.

A. Hippocampe

Quand à la vitesse annualisée de changement du volume de HIP (corrigée pour le volume de SG à l'entrée dans l'étude), nous avons trouvé un effet du statut fumeur chez les femmes ainsi qu'une tendance chez les hommes ($p=0.016$ et $p=0.08$, Table 19). Les tests post-hoc ont montré le même profil pour les deux sexes : une vitesse d'atrophie plus importante chez les fumeurs actifs que chez les non-fumeurs ($p=0.078$ pour les hommes et $p=0.0053$ pour les femmes, tests post-hoc, Figure 30) ou chez les anciens fumeurs ($p=0.025$ pour les hommes et $p=0.036$ pour les femmes, test post-hoc). Cette vitesse annualisée d'atrophie plus importante chez les fumeurs actifs n'était pas corrélée avec la variable paquets-années, que ce soit chez les hommes (pente de régression=-0.22, $p=0.094$, $N=37$) ou chez les femmes (pente de régression=-0.050, $p=0.69$, $N=26$).

	Hommes		Femmes		Groupés	
	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value	Taille d'effet	p-value
Statut fumeur		0.080		0.016		0.004
Sexe	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0.015	0.90
Sexe*StFumeur	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		0.47
Âge	-0.081	0.15	-0.11	0.009	-0.097	0.004
ApoE4	-0.20	0.094	-0.035	0.71	-0.11	0.15
Alcool	0.00001	0.99	0.051	0.17	0.024	0.48
IMC	0.067	0.21	-0.023	0.56	0.0092	0.77
CES-D	0.028	0.59	-0.035	0.35	-0.020	0.52
Cholestérolémie	-0.057	0.27	0.029	0.44	-0.0069	0.82
Éducation	-0.025	0.63	-0.0070	0.86	-0.012	0.71
Glycémie	0.029	0.58	0.064	0.097	0.053	0.094
MMSE	-0.037	0.49	-0.014	0.72	-0.022	0.49
PAS	-0.044	0.55	0.067	0.19	0.031	0.47
PAD	0.065	0.37	0.00065	0.99	0.019	0.64
HSB	-0.043	0.40	-0.14	0.0003	-0.10	0.0006
SG	-0.11	0.055	-0.0085	0.84	-0.056	0.14

Table 19 : Analyse longitudinale des effets de la consommation de tabac et des autres covariables sur la vitesse annualisée de variation du volume d'HIP. Les tailles d'effet sont en unité standardisée. Pour les effets du statut fumeur, voir Figure 30. La taille d'effet pour ApoE4 correspond à la différence entre porteurs et non-porteurs. La P-value est le niveau de significativité. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche, SG: volume de substance grise, n.a. : non applicable.

L'analyse groupant hommes et femmes sur la vitesse d'atrophie de l'hippocampe indiquait une modulation par le statut fumeur, les fumeurs actifs ayant une perte plus rapide que les anciens fumeurs (différence de vitesse=0.45 u.s., $p=0.005$) et que les non-fumeurs (différence de vitesse=0.45 u.s., $p<10^{-4}$). L'interaction statut fumeur*sexe n'était pas significative ($p=0.047$).

B. Ganglions de la base

Les vitesses annualisées de variations de volume de ganglions de la base n'étaient pas modulées par le statut fumeur des participants, que ce soit chez les hommes ($p>0.2$ dans tous les cas) ou chez les femmes ($p>0.49$ pour CAU, PUT et THA ; $p=0.074$ pour PAL). La tendance observée chez les femmes pour la vitesse d'atrophie du PAL était due à une perte plus rapide dans le groupe de fumeuses actives par rapport au groupe d'anciennes fumeuses ($\Delta=0.44$ u.s., $p=0.049$) et une tendance de vitesse accrue chez le groupe de non fumeuses par rapport aux groupe d'anciennes fumeuses ($\Delta=0.21$ u.s., $p=0.059$).

Dans les analyses groupant les hommes et les femmes, les vitesses annualisées de variations des ganglions de la base inclus n'étaient pas modulées par le statut fumeur ($p=0.40$ pour CAU, $p=0.22$ pour PAL, $p=0.24$ pour PUT et $p=0.79$ pour THA). Aucune interaction statut fumeur*sexe n'était significative ($p>0.20$), à noter toutefois une tendance pour le pallidum avec un groupe de fumeurs actifs présentant une perte réduite chez les hommes et une perte augmentée chez les femmes ($p=0.083$) par rapport aux anciens et non-fumeurs. Néanmoins les différences prises individuellement (t-test post-hoc) ne sont pas significatives.

C. Autres covariables

Au contraire de l'étude transversale, l'âge et le VTI ont eu des effets bien moindres dans l'étude longitudinale avec effets significatifs du VTI uniquement sur les vitesses annualisées de SG et SB dans les deux sexes, ainsi qu'une tendance sur l'HIP chez les hommes ; l'âge n'était significativement associé que chez les femmes, avec les vitesses annualisées de SB et d'HIP, ainsi qu'une tendance sur la vitesse de perte de SG (Figure 31).

La charge en HSB était significativement associée avec la vitesse annualisée de l'HIP. Le niveau d'éducation n'était associé avec aucune vitesse annualisée, tout comme la présence d'allèle ApoE4. L'alcool était positivement associé avec la vitesse annualisée de

changement de SB chez les hommes et avec les vitesses annualisées de changement de CE et de SG chez les femmes. Les autres covariables avaient soit peu d'effet (IMC et CES-D) soit aucun effet (MMSE, cholestérol et les deux pressions sanguines).

2. DISCUSSION

A. Cerveau entier

Ici, l'analyse longitudinale a montré que les hommes fumeurs actifs avaient une vitesse annualisée de perte très significativement augmentée par rapport aux non-fumeurs ou aux anciens fumeurs, consistant avec les résultats de Debette *et al.* (2011) dans lesquels non-fumeurs et anciens fumeurs étaient groupés. Nous montrons en plus que les anciens fumeurs ne diffèrent pas des non-fumeurs, indiquant que les effets délétères de la consommation de tabac s'arrêtent en même temps que la consommation est cessée. Nous pensons que l'absence de résultats dans l'étude de Enzinger *et al.* (2005) peut être attribué au manque de puissance statistique ou au fait qu'ils ont groupé les anciens fumeurs et fumeurs actuels dans le même groupe.

Comme pour l'analyse transversale, le profil des groupes de femmes est similaire à celui des hommes concernant la vitesse annualisée de perte de CE et similairement, grouper les hommes et les femmes nous aurait amené à conclure à un effet sexe-indépendant de la consommation de tabac.

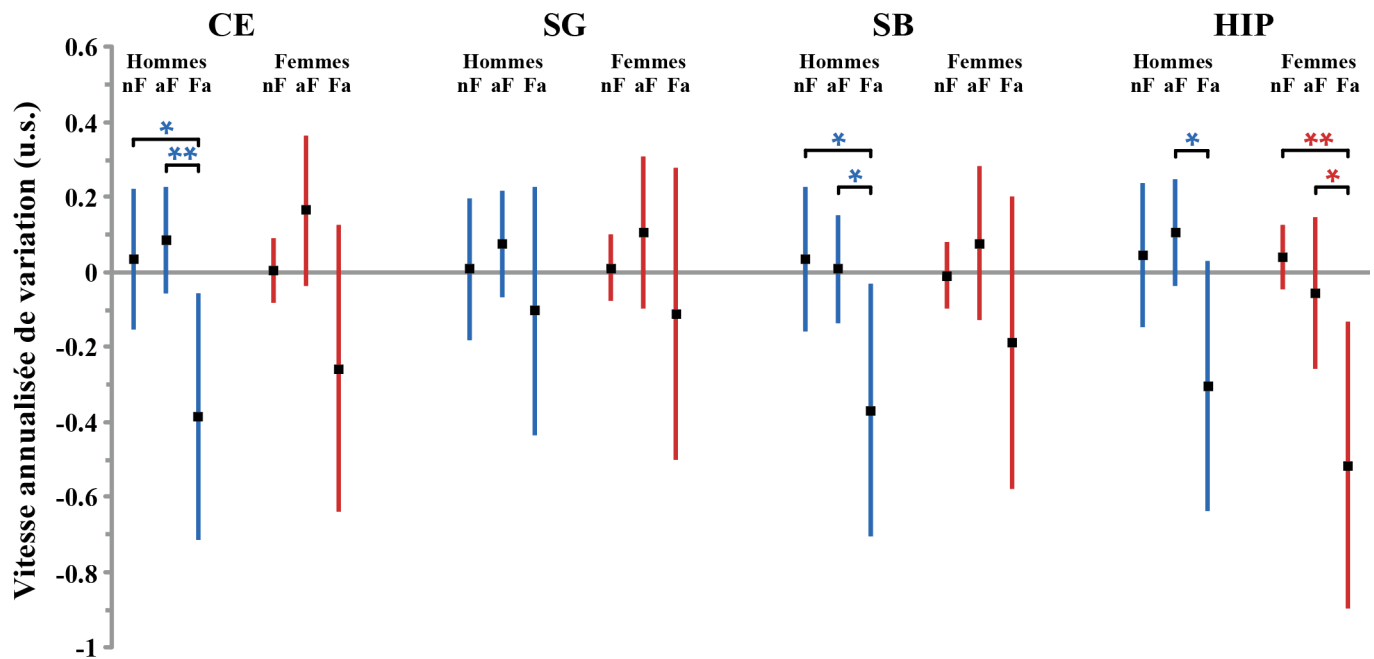


Figure 30 : Taille (et intervalle de confiance à 95%) en unité standardisée (u.s.) des effets de la consommation de tabac sur les vitesses annualisées de variation des phénotypes cérébraux chez les hommes (barres bleues) et les femmes (barres rouges). CE : cerveau entier (SG+SB), SG : substance grise, SB : substance blanche, HIP : hippocampe bilatéral. nF : non-fumeurs, aF : anciens fumeurs, Fa : fumeurs actifs. Niveaux de significativité pour les t-test post-hoc des différences entre les différents groupes de statut fumeur * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$.

B. Substance grise et substance blanche.

L'absence d'association des groupes de fumeurs avec les vitesses annualisées de changement de volume, que ce soit chez les hommes ou chez les femmes, est en accord avec les résultats similaires montrant que le statut de fumeur affectait spécifiquement des régions de SG mais pas le volume global de SG (Durazzo *et al.*, 2012). Quand à la vitesse annualisée de perte de SB due au tabac, nous avons observé une tendance à l'augmentation chez les hommes, mais pas chez les femmes bien que le profil des groupes de fumeurs soit similaire. Ceci suggère un possible effet chez les deux sexes et de futures études devraient inclure la substance grise dans leurs analyses pour évaluer cette question.

C. Hippocampe

Quand à la vitesse annualisée de perte de volume hippocampique, nous avons observé un fort effet chez les femmes, accompagné d'une tendance chez les hommes, dans les deux cas les fumeurs actifs ayant des vitesses d'atrophie plus importantes que les sujets anciens ou non-fumeurs. Ce résultat est en accord avec ceux de l'étude de Debette *et al.* (2011) montrant une accélération de l'augmentation de volume de LCR dans les

cornes temporales chez les fumeurs actifs en comparaison des anciens et non-fumeurs, et aussi avec ceux de l'étude de Durazzo *et al.* (2013) montrant une perte de volume accélérée chez les fumeurs actifs par rapport aux non-fumeurs. Par contre, c'est en désaccord partiel avec les résultats de Durazzo *et al.* (2012) rapportant une vitesse de perte accélérée dans les structures du lobe temporal médial chez 52 sujets principalement anciens fumeurs, quand notre étude indique aucune différence significative entre les non-fumeurs et les anciens fumeurs. Le nombre d'années sans tabac n'était pas précisé, cela aurait éventuellement pu permettre, en comparant avec les 25 années sans tabac de notre groupe d'anciens fumeurs, d'établir une temporalité dans l'atténuation de l'effet délétère du tabac sur la volumétrie cérébrale. Nous pensons aussi que des facteurs méthodologiques sont susceptibles d'expliquer cette différence.

D. Ganglions de la base.

Dans nos analyses longitudinales, nous n'avons pas trouvé d'association entre la consommation de tabac et les vitesses d'atrophie des ganglions de la base. Seules des tendances à une réduction accélérée dans le groupe de fumeuses actives et de réduction décélérée chez les anciennes fumeuses par rapport aux non-fumeuses étaient trouvées. A notre connaissance, aucun auteur n'a rapporté de résultats sur les vitesses d'atrophie des ganglions de la base et la consommation de tabac.

E. Autres covariables

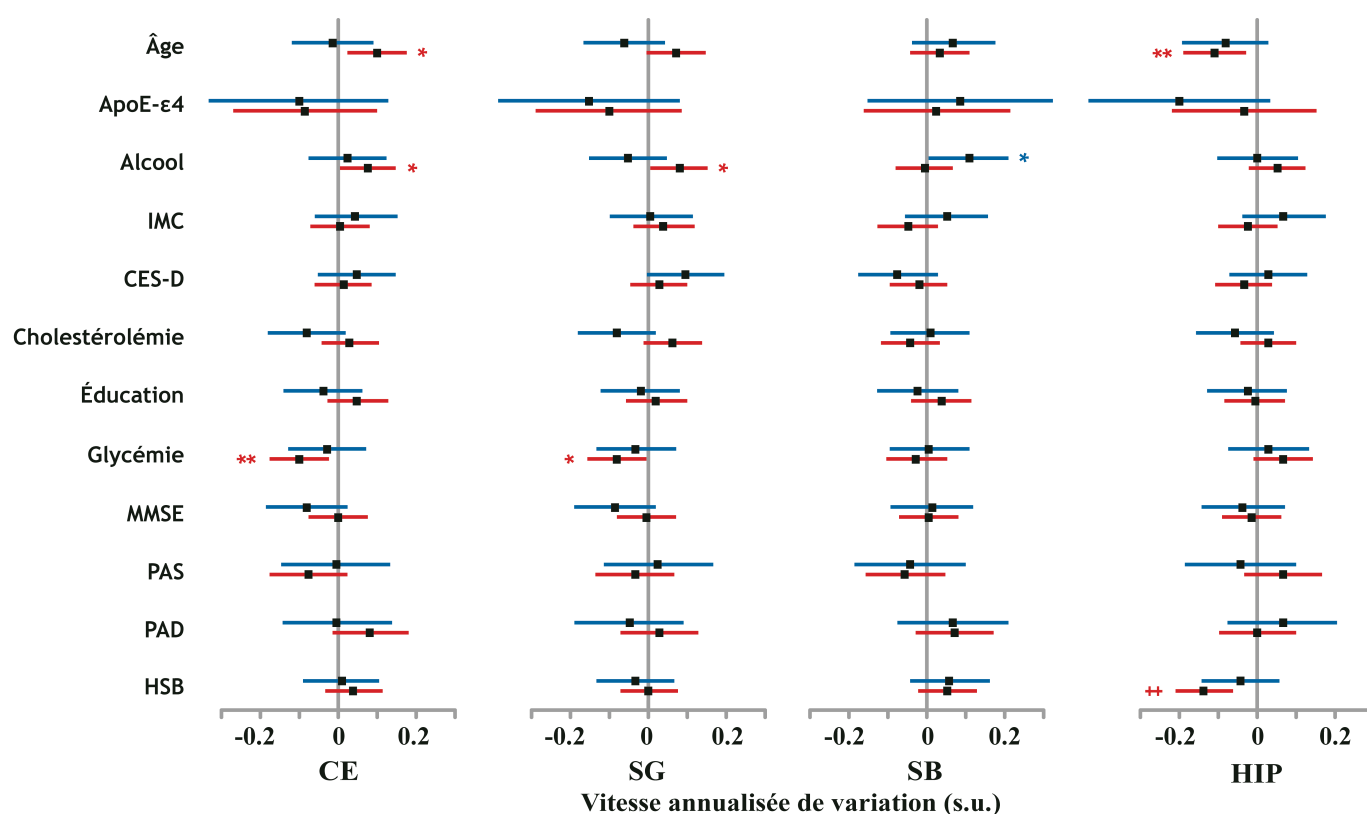


Figure 31 : Taille (et intervalle de confiance à 95%) en unité standardisée (u.s.) des effets des covariables sur les vitesses de variation annualisées des phénotypes cérébraux chez les hommes (barres bleues) et les femmes (barres rouges). CE : cerveau entier (SG+SB), SG : substance grise, SB : substance blanche, HIP : hippocampe bilatéral. IMC : indice de masse corporelle, PAS et PAD : pressions sanguines systolique et diastolique, CES-D : échelle du Center for Epidemiological Studies - Depression, MMSE : Mini Mental State Examination, HSB : Hyperintensités de la substance blanche. Niveaux de significativité pour les t-test post-hoc des différences entre les différents groupes de statut fumeur * : $p<0.05$, ** : $p<0.01$, † : $p<0.001$, ‡ : $p<0.0001$.

a- Alcool

On observe une réduction de la vitesse d'atrophie associée à la consommation d'alcool chez les femmes, ce que l'on peut remettre en lien avec l'effet protecteur d'une faible consommation d'alcool. Lorsque les deux sexes sont groupés, notre analyse longitudinale ne montre pas d'effet de la consommation d'alcool sur les vitesses annualisées d'atrophie, en apparente contradiction avec les résultats sur l'accélération de la vitesse d'atrophie chez de gros buveurs (Akiyama *et al.*, 1997; Enzinger *et al.*, 2005). Nous pensons que ce résultat discordant est expliqué par la relativement faible consommation d'alcool dans notre cohorte (1.5 et 0.5 verres d'alcool par jour pour les hommes et les femmes, respectivement).

b- Glycémie

Dans les analyses longitudinales, nous avons trouvé que la vitesse annualisée de CE, chez les femmes et dans l'analyse groupée, ainsi que de SG chez les femmes, étaient augmentées avec la glycémie, en ligne avec les résultats d'une autre étude (Enzinger *et al.*, 2005) montrant une association entre une augmentation de la vitesse d'atrophie de CE avec HbA1c.

c- Indice de masse corporelle

Dans l'analyse longitudinale, nous n'avons pas trouvé d'influence de l'IMC sur les vitesses annualisées d'atrophie de SG, SB ou HIP, que ce soit chez les hommes ou les femmes, en accord avec les résultats de Debette *et al.* (2011), mais d'autres ont rapporté des résultats en discordance partielle à savoir une augmentation de la vitesse annualisée d'atrophie avec une augmentation de l'IMC (Enzinger *et al.*, 2005) ou une réduction de la vitesse de perte de SB avec l'augmentation de l'IMC (Bobb *et al.*, 2012).

3. CONCLUSION

Les analyses longitudinales de l'impact de la consommation de cigarettes sur les vitesses d'atrophie des différents tissus et régions inclus permet d'observer un arrêt des effet délétères du tabac sur la volumétrie cérébrale à l'arrêt de la consommation. En effet les anciens fumeurs ne sont pas impactés voire même, bien qu'absolument pas significatif, se voient associées des estimations positives en lien avec leur statut concernant le tabac par rapport aux non-fumeurs. Si cela paraît peu intuitif, au moins une explication est possible. Les cellules vulnérables à la consommation de tabac, atteintes durant la période de consommation, se voient accorder un répit et la possibilité de restaurer une partie de leurs fonctions atteintes, se traduisant morphologiquement par une augmentation du volume du soma et de l'arborisation dendritique. Cela correspond plutôt bien à l'hypothèse d'une perte de l'équilibre « redox » des cellules et d'une atteinte portée par le stress oxydatif. Une fois que l'apport exogène de particules oxydantes cesse, l'équilibre cellulaire peut être restauré ainsi que les fonctions de la cellule. Mais cela est simpliste et ne prend pas en compte les atteintes durables que peut porter le stress oxydatif sur l'ADN ou les autres composants cellulaires.

Concernant les différences entre les hommes et les femmes, on peut voir qu'elles sont estompées par rapport à l'analyse transversale. Si les différences concernant la SG, la SB et l'HIP étaient très marquées, dans l'analyse longitudinale les deux sexes présentent

des motifs similaires entre les groupes de statut fumeur. Seules des différences d'amplitude et de variance amènent des variations de significativité. Si cela pourrait être dû aux différences entre les groupes de fumeurs actifs entre hommes et femmes (dont les tailles des groupes, N=37 et N=26 respectivement), cela pourrait aussi représenter des différences d'atteintes locales.

IV. ÉTUDE PAR VBM

Les résultats présentés dans cette étude exploratoire des modifications locales de densité associées à la consommation de tabac correspondent aux régions comprises dans les « clusters » significatifs à un seuil statistique de $p < 10^{-3}$. En comparaison avec le seuil classique de $p < 0.05$, cela correspond à une correction du seuil pour 50 tests indépendants. Dans les analyses VBM, le nombre de tests indépendants effectué est estimé en « resels » à partir de la largeur à mi-hauteur de la distribution des valeurs d'intensité des cartes utilisées.

Dans nos analyses transversales, le nombre de tests indépendants est compris entre 265.2 et 285.5 alors que dans nos analyses longitudinales ce nombre est compris entre 472.3 et 507.6. Dans les tables de résultats, sont spécifiées les valeurs de p corrigées pour les clusters (P_{FWE}), et dans le texte sont spécifiés les maximum locaux de significativité.

1. ANALYSE TRANSVERSALE

A. Hommes

Nous pouvons constater (voir Figure 32 et Table 20) que les hommes fumeurs (actifs et anciens) présentent des densités tissulaires moindres à l'entrée dans l'étude en comparaisons avec les non-fumeurs. Ces régions sont principalement des régions limbiques (cortex cingulaire, insula) et des ganglions de la base (putamen, pallidum) auxquelles s'ajoutent le *gyrus* frontal médial supérieur, le cervelet ainsi que des fibres d'association entre le cortex frontal et le cortex temporal ou occipital (fasciculi fronto-occipital et uncinate).

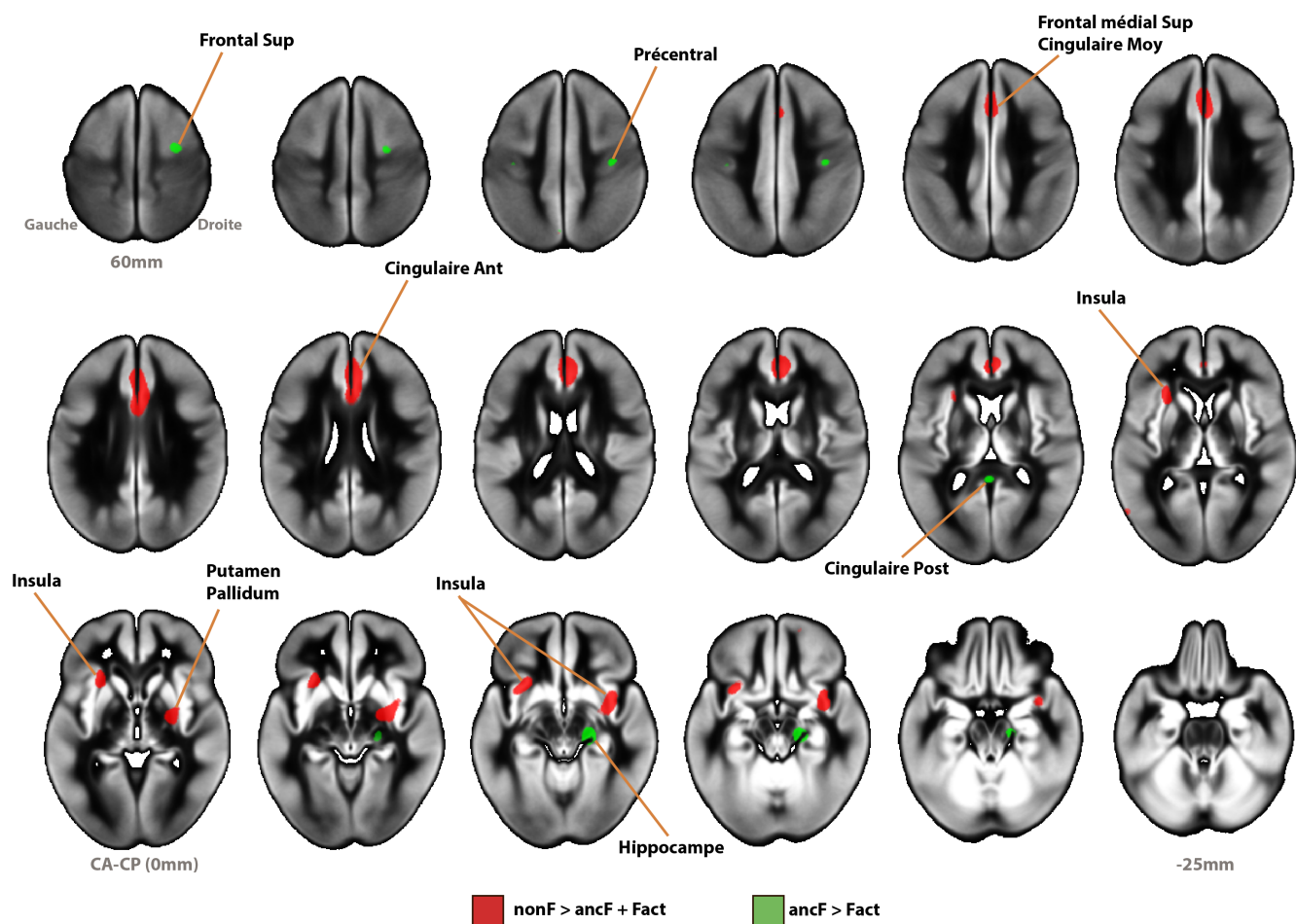


Figure 32 : Régions présentant des différences de densité entre le groupe de non-fumeurs (NonF) et les groupes d'anciens fumeurs (ancF) et de fumeurs actifs (Fact) au seuil de $p < 10^{-3}$. Les coordonnées indiquées correspondent à l'axe Z par rapport au plan commissure antérieure-commissure postérieure (CA-CP, 0mm). Les contrastes indiquent les régions de densité supérieure dans le groupe de non-fumeurs par rapport aux deux autres groupes (en rouge) et dans le groupe d'anciens fumeurs par rapport au groupe de fumeurs actifs (en vert). Résultats superposés sur une carte moyenne de l'échantillon.

Par rapport au groupe d'anciens fumeurs, les fumeurs actuels ont une densité tissulaire réduite dans l'hippocampe, les gyri frontal supérieur, précentral et postcentral droits. Les pédoncules cérébral droit et cérébelleux gauche sont aussi touchés, de même que le cervelet.

X	Y	Z	Régions incluses dans les clusters	N Voxels	P _{FWE}
4	44	19	Cingulaire Ant/Moy D+G, Frontal médial Sup D+G	7030	0.012
38	6	-14	Putamen D, SB (fronto-occipital et uncinate fasciculus D), Insula D, Pallidum D	3079	0.13
-32	15	-14	SB (fronto-occipital fasciculus G), Insula G	2228	0.23
-43	-47	-38	Cervelet G (Crus1, 7b, 6, 8, Crus2 ; non illustré)	1363	0.42
-17	-33	-32	Cervelet G (3, 4 et 5 ; non illustré)	203	0.89
19	-21	-13	SB (pédoncule cérébral D), Hippocampe D	1117	0.50
34	-4	65	FrontSup D, Precentral D	816	0.61
-18	-37	-35	SB (pédoncule cérébelleux moyen G ; non illustré), Cervelet G (4 et 5 ; non illustré)	613	0.70
38	-17	48	Precentral D et Postcentral D	223	0.88

Table 20 : Résumé des régions comprises dans les clusters de plus de 200 voxels significatifs au seuil de $p < 10^{-3}$, pour le premier contraste (rouge) dans la partie supérieure et pour le deuxième contraste (vert) dans la partie inférieure. Les coordonnées sont celles du maximum local du cluster, les régions sont indiquées par ordre de participation (en % du cluster) et la P_{FWE} est la significativité corrigée (FWE) du cluster considéré.

Concernant les maximum locaux de significativité dans l'analyse du premier contraste (NonF > ancF + Factifs), il faut noter que un passe la correction FWE ; il se situe dans le cortex cingulaire antérieur droit (X=4, Y=44, Z=19 ; p_{FWE}=0.012). Un deuxième maximum local montre une tendance corrigée ; il se situe dans le cortex frontal supérieur médial (X=-1, Y=33, Z=33 ; p_{FWE}=0.071). Pour le deuxième contraste, aucun maximum local n'approche le seuil corrigé.

B. Femmes

En comparaison avec les non-fumeuses (voir Figure 33 et Table 21), les fumeuses (anciennes et actives) présentaient à l'entrée dans l'étude des réductions de densité dans les *gyri* précentraux et postcentraux droits et gauches, réduction exacerbée chez les fumeuses actives par rapports aux anciennes fumeuses pour les *gyri* précentral et postcentral gauche.

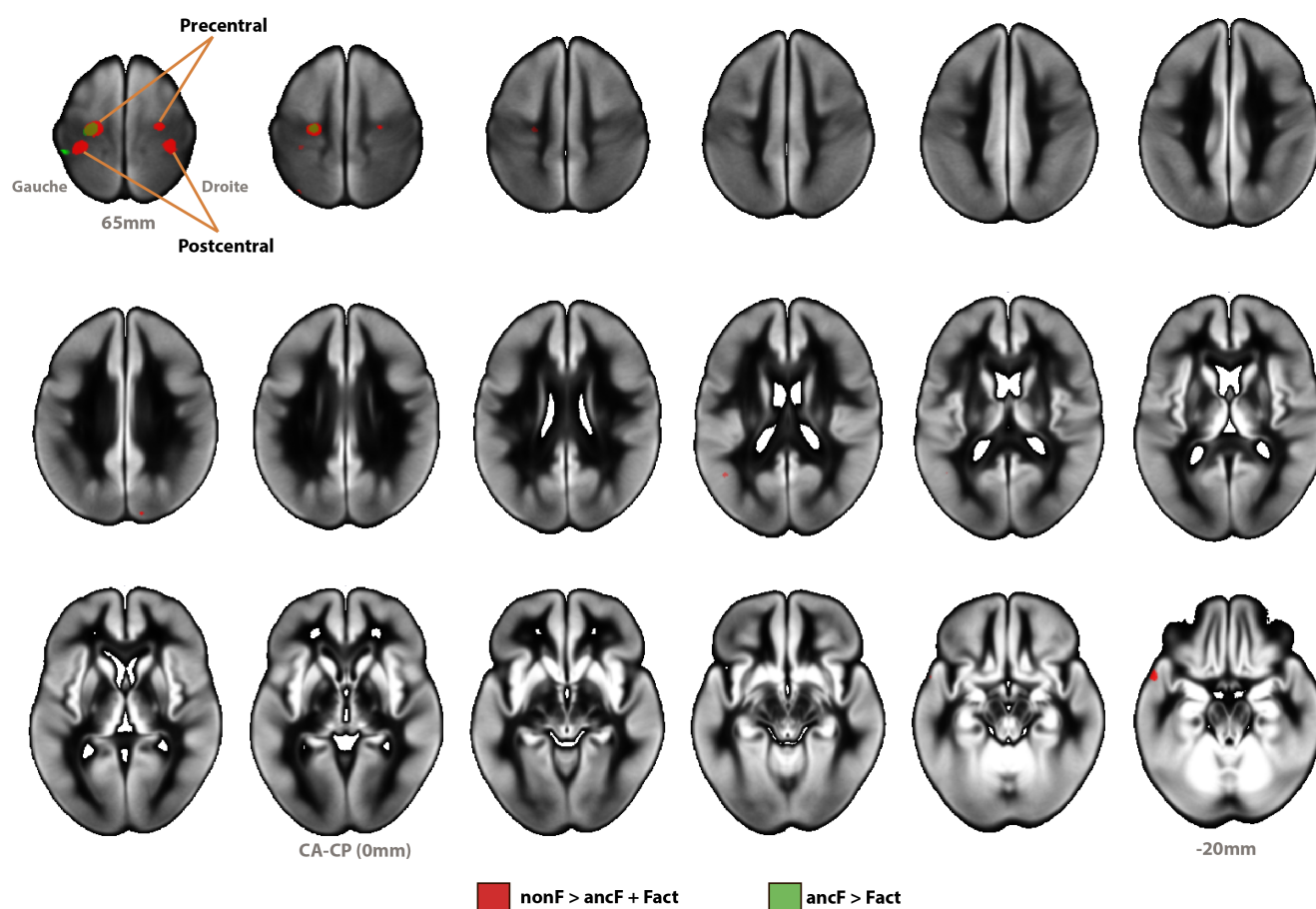


Figure 33 : Régions présentant des différences de densité entre le groupe de non-fumeuses (NonF) et les groupes d'anciennes fumeuses (ancF) et de fumeuses actives (Fact) au seuil de $p < 10^{-3}$. Les coordonnées indiquées correspondent à l'axe Z par rapport au plan commissure antérieure-commissure postérieure (CA-CP, 0mm). Les contrastes indiquent les régions de densité supérieure dans le groupe de non-fumeuses par rapport aux deux autres groupes (en rouge) et dans le groupe d'anciennes fumeuses par rapport au groupe de fumeuses actives (en vert). Résultats superposés sur une carte moyenne de l'échantillon.

X	Y	Z	Régions incluses dans les clusters	N Voxels	P _{FWE}
-22	-18	67	Précentral G	1927	0.30
-31	-34	68	Postcentral G et Précentral G	1084	0.52
34	-33	68	Postcentral D	1055	0.53
26	-18	67	Précentral G	451	0.77
-28	-24	72	Précentral G et Postcentral G	2033	0.28

Table 21 : Résumé des régions comprises dans les clusters significatifs au seuil de $p < 10^{-3}$, pour le premier contraste (rouge) dans la partie supérieure et pour le deuxième contraste (vert) dans la partie inférieure. Les coordonnées sont celles du maximum local du cluster, les régions sont indiquées par ordre de participation (en % du cluster) et la P_{FWE} est la significativité corrigée (FWE) du cluster considéré.

Pour les deux contrastes, aucun maximum local n'approche le seuil de significativité corrigé en FWE.

C. Groupés

En groupant les hommes et les femmes pour cette analyse (voir Figure 34 et Table 22), on révèle que les fumeurs (anciens et actifs) ont une densité tissulaire réduite pour les gyri cingulaires antérieur et moyen, temporaux moyen et inférieur, fusiforme, précentral et postcentral ainsi que dans l'insula et le putamen. Au niveau de la substance blanche on trouve une réduction au niveau de la corona radiata, la capsule externe, les fasciculus fronto-occipital et uncinate.

En comparaison avec les anciens fumeurs, les fumeurs actifs présentaient une densité réduite pour le gyrus frontal supérieur.

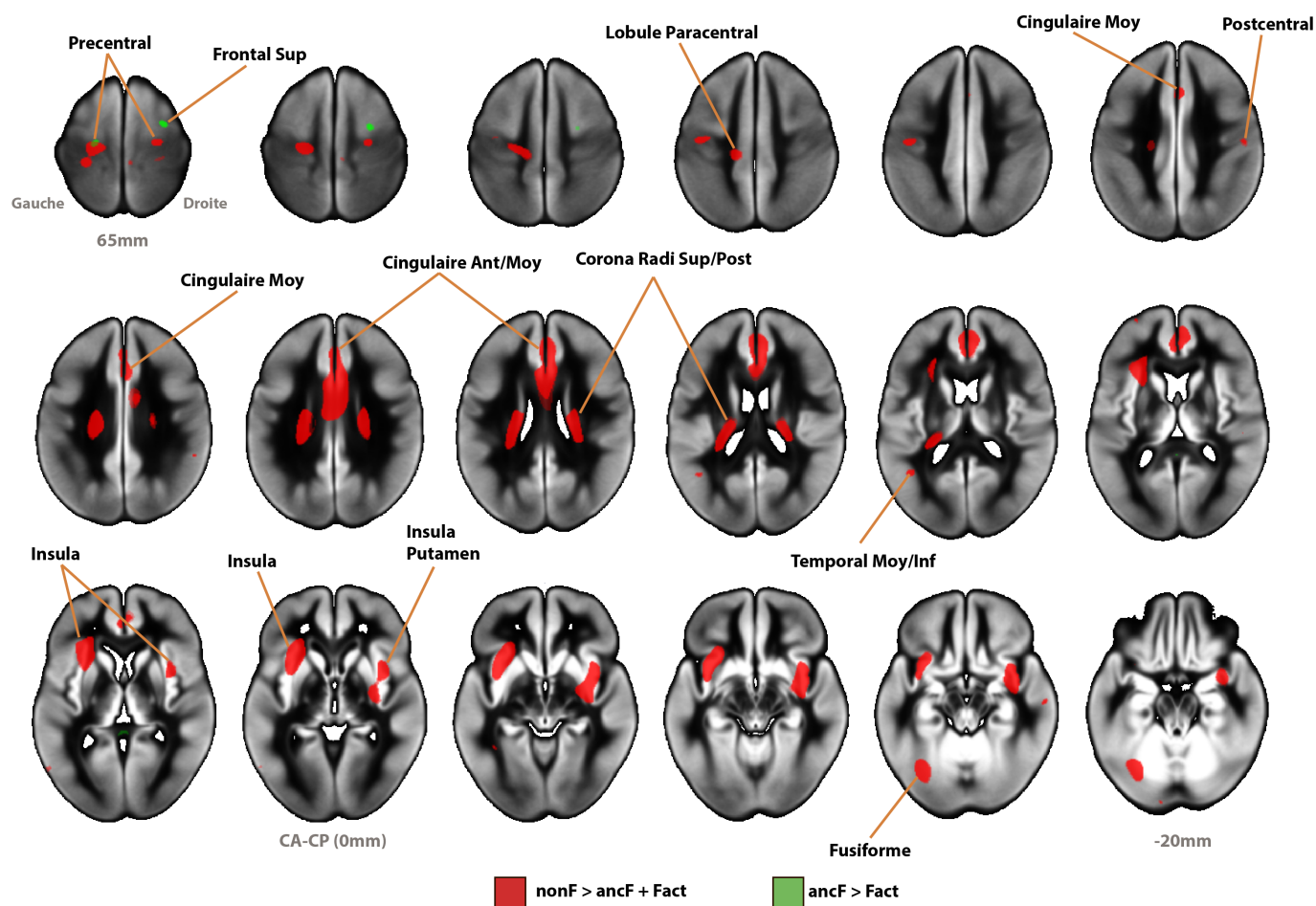


Figure 34 : Régions présentant des différences de densité entre le groupe de non-fumeurs (NonF) et les groupes d'anciens fumeurs (ancF) et de fumeurs actifs (Fact) au seuil de $p < 10^{-3}$. Les coordonnées indiquées correspondent à l'axe Z par rapport au plan commissure antérieure-commissure postérieure (CA-CP, 0mm). Les contrastes indiquent les régions de densité supérieure dans le groupe de non-fumeurs par rapport aux deux autres groupes (en rouge) et dans le groupe d'anciens fumeurs par rapport au groupe de fumeurs actifs (en vert). Résultats superposés sur une carte moyenne de l'échantillon.

Dans l'analyse du premier contraste (NonF > ancF + Factifs), deux maximums locaux sont significatifs et deux montrent une tendance après correction FWE du seuil de significativité. Les deux significatifs se situent dans le cortex cingulaire antérieur droit ($X=3$, $Y=16$, $Z=26$; $p_{FWE}=0.024$ et $X=4$, $Y=43$, $Z=20$; $p_{FWE}=0.039$). Pour le deuxième contraste, aucun maximum local n'approche le seuil corrigé.

X	Y	Z	Régions incluses dans les clusters	N Voxels	P _{FWE}
3	16	26	Cingulaire Ant/Moy D+G	12227	0.001
-33	16	-12	SB (capsule externe G, fronto-occipital fasciculus G), Insula G	8342	0.007
37	4	-14	Insula D, SB (capsule externe D, uncinate fasciculus D), Putamen D	6178	0.022
-25	-26	25	SB (Corona Radiata Sup/Post G)	5318	0.036
-28	-33	70	Précentral G et Postcentral G	3802	0.087
25	-22	25	SB (Corona Radiata Sup/Post D)	2863	0.16
-32	-68	-18	Fusiforme G	1828	0.31
-43	-16	47	Précentral G et Postcentral G	552	0.72
27	-17	63	Précentral D	381	0.80
25	-31	69	Précentral D et Postcentral D	262	0.85
-43	-57	17	Temporal Moy/Inf G	222	0.87
32	-2	65	Frontal Sup D	300	0.83

Table 22 : Résumé des régions comprises dans les clusters de plus de 200 voxels significatifs au seuil de $p < 10^{-3}$, pour le premier contraste (rouge) dans la partie supérieure et pour le deuxième contraste (vert) dans la partie inférieure. Les coordonnées sont celles du maximum local du cluster, les régions sont indiquées par ordre de participation (en % du cluster) et la P_{FWE} est la significativité corrigée (FWE) du cluster considéré.

2. ANALYSE LONGITUDINALE

A. Hommes

Dans les analyses longitudinales chez les hommes (voir Figure 35 et Table 23), nous remarquons que ce sont les lobes frontal (supérieur, gyri orbitofrontaux supérieur et moyen, et précentral) et temporal (supérieur, moyen) avec la substance blanche associée (frontale et temporale) qui sont principalement touchés chez les fumeurs actifs par rapport aux non-fumeurs et anciens fumeurs. On retrouve aussi le système limbique avec l'insula, le gyrus cingulaire antérieur, le parahippocampe et l'hippocampe.

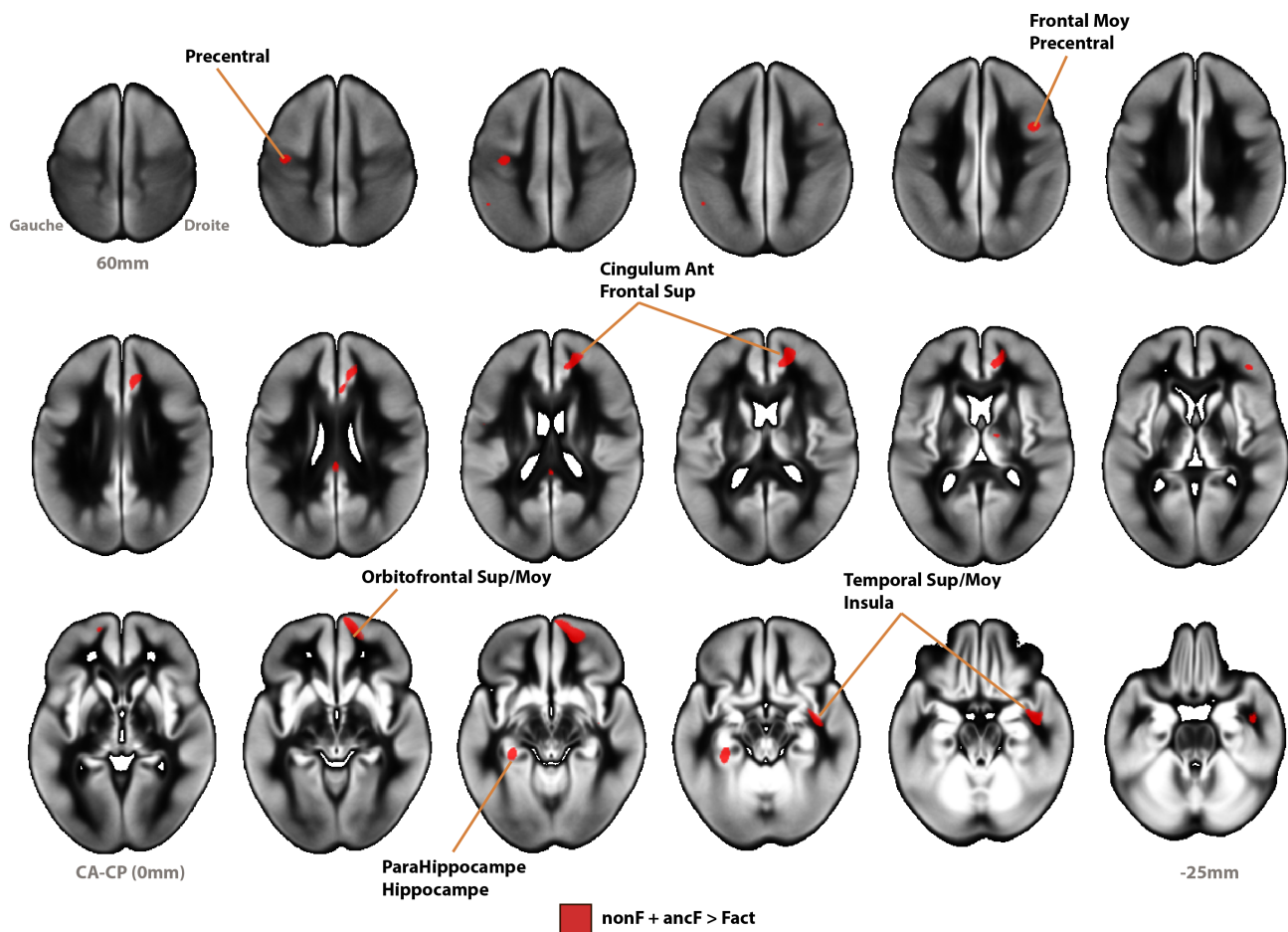


Figure 35 : Régions présentant des différences de vitesses de variation de densité entre le groupe de non-fumeurs (NonF) et les groupes d'anciens fumeurs (ancF) et de fumeurs actifs (Fact) au seuil de $p < 10^{-3}$. Les coordonnées indiquées correspondent à l'axe Z par rapport au plan commissure antérieure-commissure postérieure (CA-CP, 0mm). Le contraste indique les régions où les vitesses de variation de densité sont supérieures dans le groupe de fumeurs actifs par rapport aux deux autres groupes (en rouge).

X	Y	Z	Régions incluses dans les clusters	N Voxels	P _{FWE}
18	56	-10	Orbitofrontal Sup/Moy D	1471	0.27
18	52	15	Cingulaire Ant D, SB (Frontale Sup) D, Frontal Sup D	2132	0.13
43	-5	-22	SB (Temporale Sup/moy/Inf D), Temporal Sup/Moy D, Insula D	926	0.51
-30	-35	-15	ParaHippocampe G, Hippocampe G	582	0.72
42	9	40	Frontal Moy D, Précentral D	343	0.87
-35	-16	51	Précentral G	496	0.77

Table 23 : Résumé des régions comprises dans les clusters de plus de 200 voxels significatifs au seuil de $p < 10^{-3}$, pour le contraste (rouge). Les coordonnées sont celles du maximum local du cluster, les régions sont indiquées par ordre de participation (en % du cluster) et la P_{FWE} est la significativité corrigée (FWE) du cluster considéré.

Dans cette analyse, aucun maximum local n'approche le seuil de significativité corrigé en FWE.

B. Femmes

Concernant les femmes fumeuses actives (voir Figure 36 et Table 24), nous avons aussi trouvé des accélérations de la perte de densité principalement dans le lobe frontal (*gyri* frontal médial supérieur et frontal moyen, *pars triangularis* du *gyrus* frontal inférieur) auquel s'ajoutent le *gyrus* temporal supérieur et le *gyrus* supramarginal.

Dans cette analyse, un maximum local montre une tendance après correction en FWE ; il se situe dans le cortex temporal supérieur droit (X=57, Y=-19, Z=,1 ; $p_{FWE}=0.062$).

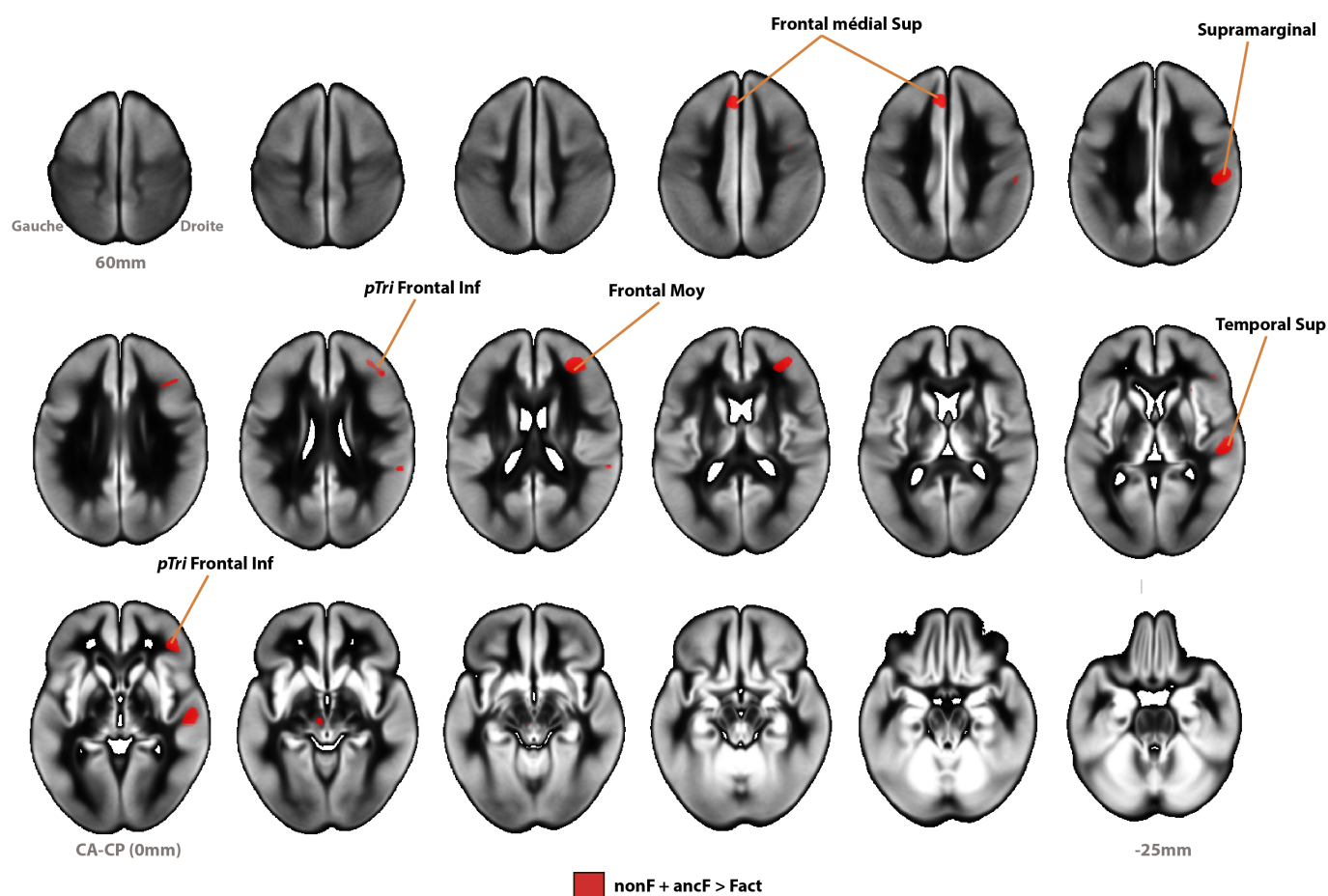


Figure 36 : Régions présentant des différences de vitesses de variation de densité entre le groupe de non-fumeuses (NonF) et les groupes d'anciennes fumeuses (ancF) et de fumeuses actives (Fact) au seuil de $p < 10^{-3}$. Les coordonnées indiquées correspondent à l'axe Z par rapport au plan commissure antérieure-commissure postérieure (CA-CP, 0mm). Le contraste indique les régions où les vitesses de variation de densité sont supérieures dans le groupe de fumeuses actives par rapport aux deux autres groupes (en rouge).

X	Y	Z	Régions incluses dans les clusters	N Voxels	P _{FWE}
33	43	17	Frontal Moy D, pTri Frontal Inf D	1747	0.21
57	-19	1	Temporal Sup D	1197	0.38
54	-26	35	Supramarginal D	913	0.52
-4	33	42	Frontal médial Sup G	827	0.57
43	38	0	pTri Frontal Inf D	590	0.71

Table 24 : Résumé des régions comprises dans les clusters de plus de 200 voxels significatifs au seuil de $p < 10^{-3}$, pour le contraste (rouge). Les coordonnées sont celles du maximum local du cluster, les régions sont indiquées par ordre de participation (en % du cluster) et la P_{FWE} est la significativité corrigée (FWE) du cluster considéré.

C. Groupés

Lorsque nous groupons les deux sexes ensemble (voir Figure 37 et Table 25), nous retrouvons des régions frontales (*gyri* frontaux et orbitofrontaux supérieur et moyen, *pars triangularis* du *gyrus* frontal inférieur, lobule paracentral), temporales (*gyri* temporaux supérieur et moyen) et limbiques (*gyri* cingulaires moyen et postérieur et moyen, insula, hippocampe) auxquelles s'ajoutent des ganglions de la base (noyau caudé, putamen et thalamus) ainsi que l'aire motrice supplémentaire, le *gyrus* postcentral, le lobule lingual, le cuneus et le cortex entourant la fissure calcarine.

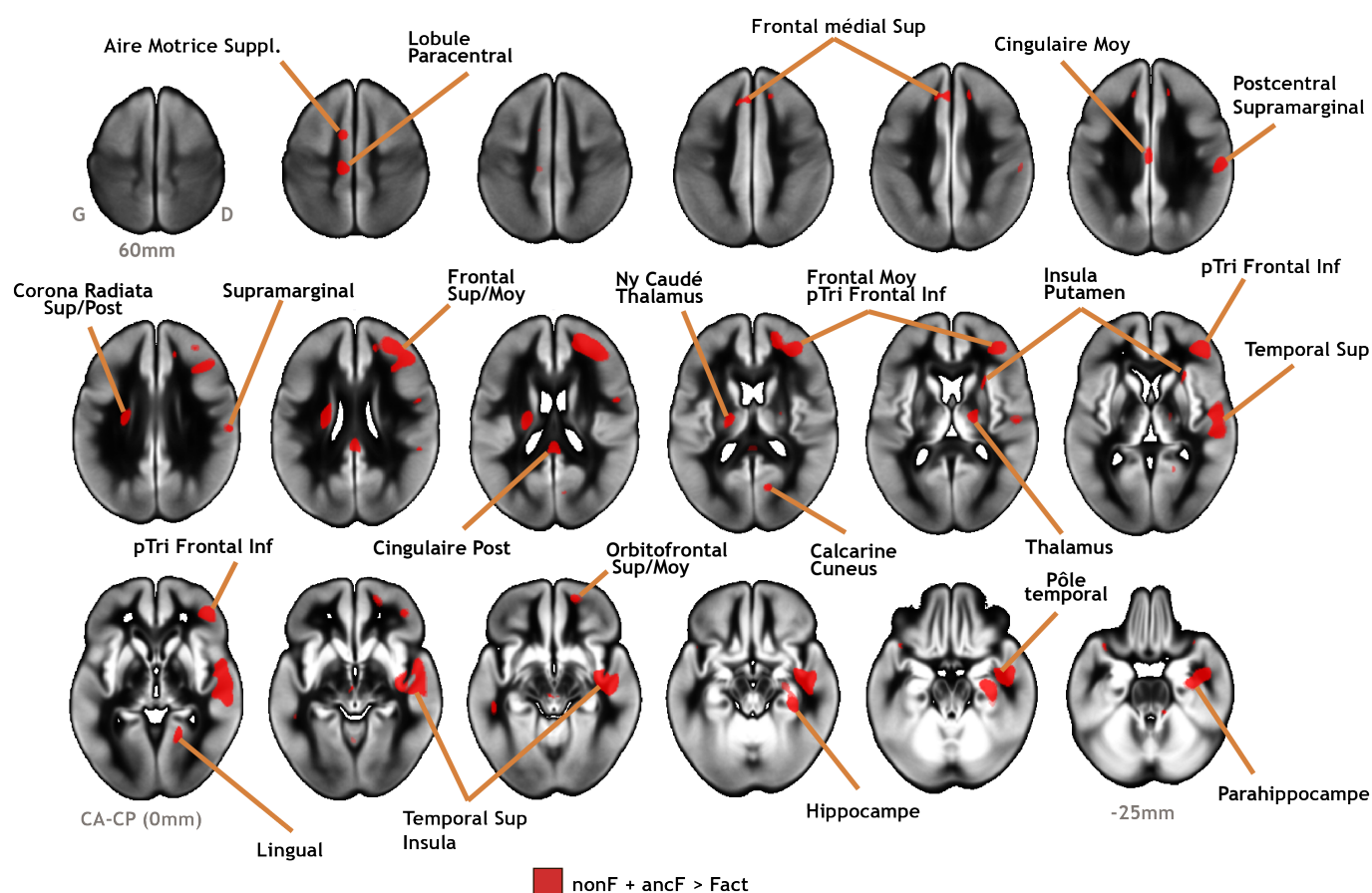


Figure 37 : Régions présentant des différences de vitesses de variation de densité entre le groupe de non-fumeurs (NonF) et les groupes d'anciens fumeurs (ancF) et de fumeurs actifs (Fact) au seuil de $p < 10^{-3}$. Les coordonnées indiquées correspondent à l'axe Z par rapport au plan commissure antérieure-commissure postérieure (CA-CP, 0mm). Le contraste indique les régions où les vitesses de variation de densité sont supérieures dans le groupe de fumeurs actifs par rapport aux deux autres groupes (en rouge).

Concernant la substance blanche, nous avons trouvé des accélérations de la perte de densité pour la capsule interne et externe, la corona radiata, le splenium du corps calleux ainsi que la substance blanche fronto-occipitale et temporale moyenne.

X	Y	Z	Régions incluses dans les clusters	N Voxels	P _{FWE}
57	-16	-1	Temporal Sup D, SB (Temporale Sup D), Hippocampe D, Insula	13607	<10 ⁻³
42	43	3	Frontal Moy/Sup D, pTri Frontal Inf D	9585	<10 ⁻³
-23	-13	24	SB (Capsule Interne G et Corona Radiata Sup G), Noyau Caudé G, Thalamus G	2101	0.15
1	-38	19	SB (Splenium du Corps Calleux), Cingulaire Post D+G	901	0.53
59	-22	34	Supramarginal D, Postcentral D	864	0.55
-1	33	42	Frontal médial Sup G	738	0.63
-10	-26	55	Lobule Paracentral G	590	0.72
18	-11	8	SB (Capsule Interne D), Thalamus D	508	0.77
19	55	-8	Orbitofrontal Sup/Moy D, SB (orbitofrontale D)	440	0.81
19	-55	0	Lingual D	430	0.81
-2	-13	36	Cingulaire Moy D+G	370	0.85
-11	2	54	Aire Motrice Supplémentaire G	284	0.90
28	20	7	SB (Capsule Externe D), Insula D, Putamen D	286	0.90
13	-71	15	Calcarine D, Cuneus D	208	0.93
-49	-34	-10	SB (Temporale moyenne G), Temporal Moy G	222	0.93

Table 25 : Résumé des régions comprises dans les clusters de plus de 200 voxels significatifs au seuil de $p < 10^{-3}$, pour le contraste (rouge). Les coordonnées sont celles du maximum local du cluster, les régions sont indiquées par ordre de participation (en % du cluster) et la P_{FWE} est la significativité corrigée (FWE) du cluster considéré.

Dans cette analyse, un maximum local approche le seuil de significativité corrigée, il se situe dans le *gyrus* temporal supérieur droit (X=57, Y=-16, Z=-1; $p_{FWE}=0.089$).

3. DISCUSSION

A. Étude transversale

La première remarque concernant les résultats de l'étude transversale est qu'aucune région rapportée dans les analyses n'est commune aux deux sexes. Néanmoins, nous retrouvons plusieurs régions de l'analyse de chaque sexe dans l'analyse groupée. Pour le contraste comparant les non-fumeurs aux deux autres groupes, c'est le cas chez les hommes pour le cortex cingulaire antérieur droit (passant le seuil corrigé dans l'analyse chez les hommes et l'analyse groupée), le putamen, l'insula ainsi que deux tracts de substance blanche : les *fasciculi* fronto-occipital gauche et uncinate droit ; alors que pour l'analyse concernant les femmes c'est le cas pour les deux résultats : les *gyri* précentral et

postcentral. Pour le deuxième contraste comparant les anciens fumeurs aux fumeurs actifs, seul le *gyrus* frontal supérieur est retrouvé dans l'analyse groupée.

Nous avons trouvé des auteurs rapportant des altérations de la substance blanche associées avec la consommation de tabac, mais à notre connaissance aucun n'a étudié les effets chez les hommes et les femmes séparément. Ceux de la première étude (Zhang *et al.*, 2010) utilise l'imagerie en tenseur de diffusion chez des adultes d'âge moyen, sains ou atteints de schizophrénie (≈ 35 ans, $N=115$). Leurs résultats indiquent un effet principal du statut fumeur avec une réduction de l'anisotropie fractionnelle⁶ chez les fumeurs par rapport aux non-fumeurs dans la radiation thalamique antérieure gauche, dans le bras antérieur de la capsule interne ainsi que dans le cortex frontal gauche. Les auteurs de la deuxième étude (Yu *et al.*, 2011) ont utilisé l'analyse voxel à voxel chez des participants d'âge moyen (≈ 40 ans, $N=32$) sur des cartes de densité de SG et de SB. Pour la substance blanche ils rapportent des réductions de densité chez les fumeurs dans les *gyri* frontal moyen, temporal inférieur, pariétal, lingual et occipital moyen ainsi que des augmentations dans le cingulaire antérieur et moyen, temporal supérieur, occipital et le putamen. La troisième étude (Lin *et al.*, 2013) était réalisée chez des adultes d'âges moyens (33-58 ans, $N=68$) avec l'imagerie en tenseur de diffusion. Les auteurs rapportent une réduction d'intégrité de la substance blanche dans la partie antérieure et le « genou » du corps calleux. Ils ont de plus montré que les valeurs de diffusivité moyenne et de diffusivité radiale⁷ étaient positivement corrélées à la durée de consommation de cigarettes, ainsi qu'une tendance de corrélation négative concernant l'anisotropie fractionnelle. Dans une quatrième étude (Umene-Nakano *et al.*, 2014) utilisant aussi l'imagerie par tenseur de diffusion chez des participants d'âge moyen (≈ 38 ans, $N=37$) les auteurs ont montré une réduction de l'anisotropie fractionnelle dans le corps calleux, valeur de plus corrélée négativement avec l'intensité de la consommation de cigarettes (en nombre de cigarettes/jour).

⁶ L'anisotropie fractionnelle représente la directionnalité de la diffusion de l'eau. Une valeur proche de 1 indique que l'eau diffuse selon un seul axe principalement et une valeur proche de zéro représente une diffusion isotrope, sans préférence de direction. Une diminution de cette valeur représente une diminution de l'intégrité de la substance blanche.

⁷ La diffusivité moyenne représente une mesure de la contrainte opposée aux mouvements de l'eau et la diffusivité radiale (ou « perpendiculaire », à l'axe du tenseur) représente la contrainte due à l'imperméabilité des structures longitudinales (neurofibrilles de l'axone, membrane axonale et gaine de myéline). Une augmentation de ces valeurs représente donc une diminution d'intégrité de substance blanche.

Concernant les études voxel à voxel sur l'influence du tabac sur la densité de SG, leurs résultats principaux ont été résumés par une méta-analyse publiée récemment (Pan *et al.*, 2013) auxquelles nous avons ajouté une étude publiée ultérieurement (Franklin *et al.*, 2014). Elles sont présentées en Table 26:

Étude	Échantillon (hommes)	Âge (DS)	Années de conso. (DS)	Résultats principaux (réductions de densité)
Morales <i>et al.</i> , 2012	FC : 25 (13) NF : 18 (8)	35.4 (1.8) 30.1 (2.2)	11.5 (1.9)	Cortex orbitofrontal droit
Gallinat <i>et al.</i> , 2006	FC : 22 (12) NF : 23 (12)	30.8 (7.5) 30.3 (7.9)	13.9 (7.3)	Sous-régions du lobe frontal, cortex occipital, cuneus, precuneus et thalamus
Yu <i>et al.</i> , 2011	FC : 16 (nr) NF : 16 (nr)	41.6 (5.5) 39.2 (4.5)	21.1 (3.9)	<u>SG</u> : Cortex frontal supérieur, cingulaire antérieur, précentral, temporal, occipital moyen, fusiforme, supramarginal, precuneus et cervelet. <u>SB</u> : cortex frontal moyen, temporal inférieur, pariétal, precuneus, lingual, occipital moyen et cervelet.
Zhang <i>et al.</i> , 2011b	FC : 48 (24) NF : 48 (24)	31.4 (8.1) 31.1 (8.8)	12.8 (7.4)	Cortex préfrontal gauche.
Liao <i>et al.</i> , 2010	FC : 44 (36) NF : 44 (39)	28.1 (5.5) 26.3 (5.8)	10.4 (5.7)	Thalamus gauche, cortex frontal moyen gauche et cingulaire antérieur
Brody <i>et al.</i> , 2004a	FC : 19 (11) NF : 17 (10)	39.5 (10.3) 37.9 (12.9)	31.0 (17.9)	Cortex préfrontal bilatéral ainsi que cervelet droit.
Almeida <i>et al.</i> , 2008	FC : 39 (25) NF : 39 (nr)	75.0 (3.4) 75.7 (3.2)	59 (nr)	Gyri cingulaire postérieur droit, précentral bilatéral, precuneus, thalamus droit.
Franklin <i>et al.</i> , 2014	FC : 80 (41) NF : 80 (41)	32.1 (7.4) 33.8 (10.9)	14.0 (9.9)	<u>Les deux sexes</u> : thalamus, cortex préfrontal, cervelet bilatéral. <u>Hommes</u> : thalamus et cervelet bilatéral. <u>Femmes</u> : thalamus, cervelet gauche, cortex préfrontal médial et orbitofrontal médial.

Table 26 : Résumé des principales études voxel à voxel sur la consommation de tabac et la densité en SG. DS = déviation standard, FC = fumeurs chroniques, NF = non-fumeurs. « Années de conso. » est le nombre d'année de consommation de cigarettes en moyenne. Repris et adapté de Pan *et al.*, 2013.

La conclusion de cette méta-analyse, qui n'inclut pas la dernière étude, est que la seule région présentant des résultats robustes est le cortex cingulaire antérieur, inchangé en enlevant chaque étude une à la fois. C'est le résultat le plus robuste de notre étude transversale, présent uniquement chez les hommes mais retrouvé dans l'analyse groupée avec deux maximums locaux passant le seuil de significativité corrigé. La seule étude séparant hommes et femmes n'a pas trouvé ce résultat, sûrement à cause de la différence d'âge dans les sujets, ce résultat demande donc une confirmation dans un autre échantillon. Dans cette étude (Franklin *et al.*, 2014) on peut voir que les différences de diminutions d'intensité entre les deux sexes sont : dans le cervelet droit uniquement chez les hommes et les cortex orbitofrontal et préfrontal médial chez les femmes. Si l'on

compare nos résultats avec ceux de la seule étude chez le sujet âgé (Almeida *et al.*, 2008), le seul résultat commun est le *gyrus* précentral bilatéral. Il faut noter que les *gyri* précentral et postcentral droits chez les hommes et gauches chez les femmes ont une densité diminuée chez les fumeurs actifs en comparaison avec les anciens fumeurs, confortant le résultat commun avec l'étude d'Almeida *et al.* (2008). Concernant les autres résultats observés, le cervelet est retrouvé dans 4 des études cités dans la Table 26 ; le lobe frontal est aussi un résultat retrouvé dans toutes les études. Le thalamus, non trouvé impacté par le tabac dans notre étude est retrouvé dans 4 études dont celle chez le sujet âgé.

B. Étude longitudinale

Contrairement à notre analyse transversale, nous avons obtenu des résultats communs aux trois analyses chez les hommes, les femmes et groupés. Il s'agit des *gyri* frontal moyen droit et temporal supérieur droit, en notant que ce dernier comporte un maximum local passant le seuil de significativité corrigé dans les analyses chez les femmes et groupés. Il y a aussi des régions représentées dans l'analyse d'un seul des sexes mais que l'on retrouve dans l'analyse groupée. C'est le cas des *gyri* orbitofrontaux supérieur et moyen, frontal supérieur, insula et la substance blanche temporale supérieure chez les hommes et des *gyri* frontal supérieur, *pars triangularis* du *gyrus* frontal inférieur et le supramarginal chez les femmes.

A notre connaissance, aucune étude dans la littérature n'a étudié les variations locales de densité en lien avec la consommation de tabac chez le sujet âgé en séparant par le sexe. Cette phrase reste vraie sans tenir compte de l'âge ou de la séparation des hommes et des femmes.

Dans l'analyse groupée par rapport à notre analyse transversale, nous retrouvons le *gyrus* cingulaire moyen, le temporal moyen, le postcentral, le putamen, l'insula pour la SG et pour la SB nous retrouvons la capsule externe ainsi que la corona radiata supérieure. Si l'on compare nos résultats longitudinaux à l'analyse chez le sujet âgé d'Almeida, nous retrouvons le cingulaire postérieur.

4. CONCLUSION

Si l'on prend nos résultats dans leur ensemble, nous pouvons tout d'abord remarquer qu'il est probable que les tailles des groupes fumeurs actuels hommes (N=49 en transversal et N=37 en longitudinal) et femmes (N=34 en transversal et N=26 en longitudinal) sont probablement trop faibles pour offrir la puissance statistique nécessaire pour garantir la robustesse des résultats entre les différentes analyses. Lorsque l'on regarde les cartes seuillées à $p < 10^{-3}$, seuil relativement permissif, entre les analyses séparées et groupées, la gain statistique offert par l'analyse conjointe des hommes et des femmes est évident.

Néanmoins, l'objectif de cette analyse était bien d'explorer les éventuelles régions cérébrales préférentiellement touchées par la consommation de cigarettes ainsi que de vérifier de potentielles différences entre les hommes et les femmes. Ces objectifs semblent atteints. La différence la plus évidente concerne la substance blanche. En effet alors que certaines régions semblent impactées chez les hommes, il n'y a aucun résultat chez les femmes. Une autre différence majeure est l'absence d'atteinte des structures sous-corticales chez les femmes, alors qu'elles sont présentes chez les hommes mais surtout dans les analyses groupées.

Lorsque l'on prend les analyses groupées, on peut voir que le lobe frontal, le lobe limbique ainsi que les ganglions de la base sont des régions particulièrement touchées en comparaison avec le reste de la substance grise. On voit aussi une atteinte des fibres associatives entre le cortex frontal et les cortex occipital et temporal (fasciculi fronto-occipital et uncinate). Si l'on prend en compte la présence de la capsule interne, du putamen, ainsi que d'aires corticales motrices (précentral, lobule paracentral, aire motrice supplémentaire) il semble y avoir une atteinte du contrôle moteur chez les fumeurs âgés. Cela semble en opposition avec certaines études relatant une amélioration par la nicotine des symptômes associés à la prise de L-DOPA dans le traitement de la maladie de Parkinson (Quick 2004), mais il semble que cela ne soit pas dû à une protection contre la dégénération (donc l'atrophie) mais à une augmentation de la transmission de dopamine (Garcia Montes 2012) ; de plus cela omet les autres composants délivrés par la fumée de cigarette.

D'un point de vu global, nous avons montré qu'au cours de la vie la consommation de tabac impactait la morphologie cérébrale différemment entre les hommes et les

femmes. La substance grise est touchée chez les hommes alors que ce sont la substance blanche et l'hippocampe qui sont touchés chez les femmes. En fin de vie, ces différences semblent toujours présentes mais fortement atténuées avec des profils bien plus similaires entre les deux sexes dans les analyses longitudinales que dans les analyses transversales. De plus l'atteinte de la substance blanche et de l'hippocampe chez les hommes dans les analyses longitudinales suggère un effet possiblement retardé chez les hommes. Ces résultats sont compatibles avec l'hypothèse oxydative de l'impact du tabac, induisant une atteinte des corps cellulaires suivie d'une atteinte des fibres myélinisées desdits neurones. Cela supposerait aussi la présence d'un effet sur la substance grise chez les femmes, ce qui n'est absolument pas suggéré par les analyses réalisées. L'absence de cet effet peut à la fois être dû à la relative petite taille des groupes de fumeurs chez les femmes par rapport aux hommes et à consommation tabagique inférieure. Mais cela peut aussi être expliqué par l'effet cholinergique du traitement hormonal de substitution sur la morphologie cérébrale chez les femmes avec, comme pour le vieillissement et la maladie d'Alzheimer, un recoupement possible des phénotypes liés à la consommation de tabac et à l'absence de prise d'une substitution hormonale, qui concerne presque les deux tiers des femmes de nos études. Cela reste hautement spéculatif, mais une atteinte des fibres myélinisées sans atteinte des neurones les projetant (ou recevant l'afférence) semble improbable.

Les analyses des variations locales nous ont permis d'obtenir certaines précisions quand aux variations phénotypiques résultant de la consommation de tabac. La première serait que la consommation de tabac est d'abord liée à une atrophie globale, même si quelques régions semblent spécifiquement touchées. Le peu de résultats présentant une robustesse au long des analyses amène cette conclusion. On observe un fort effet sur la substance blanche globale chez les femmes, mais aucune structure locale ne semble particulièrement impactée. De la même manière, chez les femmes l'hippocampe qui pourtant présentait dans les analyses globales une atrophie spécifiquement plus importante que le reste de la substance grise n'est pas retrouvé, alors qu'on le retrouve chez les hommes, où il était absent dans les résultats globaux. Cela reste à nuancer car les analyses voxel à voxel sont plus sensibles aux tailles des échantillons que les analyses sur les volumes et cela pourrait expliquer l'absence de consistance entre les deux types d'analyses. Au contraire, localement le tabac semble impacter particulièrement le *gyrus* cingulaire antérieur ainsi que le putamen, spécifiquement chez les hommes. Ces deux résultats semblent les plus robustes car le cingulaire antérieur est retrouvé dans beaucoup

d'études et était confirmé par une méta-analyse. La présence de ces effets chez les hommes uniquement reste à confirmer dans une autre population.

V. CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Nous avons vu que le tabac avait un impact majeur sur le vieillissement neuroanatomique, du même ordre de grandeur que l'âge et bien supérieur aux autres facteurs analysés. Nos analyses ont montré un effet global sur l'atrophie cérébrale avec quelques régions spécifiquement touchées. Néanmoins le résultat majeur est la différence de l'effet entre les hommes et les femmes. Cela n'avait jamais été montré auparavant et demande une réplique dans une autre population afin d'être confirmé.

Nos analyses indiquent aussi que l'effet semble s'arrêter en concomitance avec l'arrêt de la consommation, montrant qu'une intervention sur ce facteur de risque aurait un effet bénéfique pour le sujet. Ainsi, l'arrêt de la consommation de tabac, outre les effets bénéfiques sur la santé globale des individus, pourrait aussi améliorer la préservation des facultés cognitives en fin de vie.

Toutefois, des analyses complémentaires sont nécessaires afin d'évaluer l'impact de la consommation de tabac sur la cognition en fin de vie. L'arrivée sur le marché de substituts aux cigarettes classiques comme les cigarettes électroniques peut permettre de répondre à certaines questions. En effet des composés toxiques ou cancérigènes sont retrouvés dans la vapeur des cigarettes électroniques, mais en nombre bien inférieur et en concentration bien plus faible que pour les cigarettes classiques (Goniewicz *et al.*, 2014). Cela pourrait alors permettre d'évaluer les différences d'impact de deux types de cigarettes afin de mieux évaluer l'effet de la nicotine sur la cognition et la morphologie cérébrale.

Enfin l'évaluation du risque associé au tabac sur la cognition et l'anatomie cérébrale sur l'ensemble de la vie permettrait de mieux le caractériser afin de mieux cerner les mécanismes sous-jacents. À ce titre, l'étude I-Share chez les sujets jeunes se montre d'un intérêt particulier, par son ampleur et l'inclusion exhaustive de facteurs de risque chez un grand nombre de sujets, dont la consommation de cigarettes et cigarettes électroniques.

Références

- Abe O, Aoki S, Hayashi N, Yamada H, Kunimatsu A, Mori H, Yoshikawa T, Okubo T, Ohtomo K (2002) Normal aging in the central nervous system: quantitative MR diffusion-tensor analysis. *Neurobiol Aging* 23:433-441.
- Abe O, Yamasue H, Yamada H, Masutani Y, Kabasawa H, Sasaki H, Takei K, Suga M, Kasai K, Aoki S, Ohtomo K (2010) Sex dimorphism in gray/white matter volume and diffusion tensor during normal aging. *NMR Biomed* 23:446-458.
- Akiyama H, Meyer JS, Mortel KF, Terayama Y, Thornby JI, Konno S (1997) Normal human aging: factors contributing to cerebral atrophy. *J Neurol Sci* 152:39-49.
- Albayrak O, Tirniceriu A, Riemenschneider M, Kurz A, Scherag A, Egensperger R (2010) The cathepsin D (224C/T) polymorphism confers an increased risk to develop Alzheimer's disease in men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 65:219-224.
- Allen JS, Bruss J, Brown CK, Damasio H (2005) Normal neuroanatomical variation due to age: the major lobes and a parcellation of the temporal region. *Neurobiol Aging* 26:1245-1260; discussion 1279-1282.
- Allen JS, Damasio H, Grabowski TJ, Bruss J, Zhang W (2003) Sexual dimorphism and asymmetries in the gray-white composition of the human cerebrum. *NeuroImage* 18:880-894.
- Almeida OP, Garrido GJ, Lautenschlager NT, Hulse GK, Jamrozik K, Flicker L (2008) Smoking is associated with reduced cortical regional gray matter density in brain regions associated with incipient Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 16:92-98.
- Alpérovitch A, Amouyel P, Dartigues J-F, Ducimetière P, Mazoyer B, Ritchie K, Tzourio C (2002) [Epidemiological studies on aging in France: from the PAQUID study to the Three-City study]. *C R Biol* 325:665-672.
- Ancelin M-L, Ripoche E, Dupuy A-M, Barberger-Gateau P, Auriacombe S, Rouaud O, Berr C, Carrière I, Ritchie K (2013) Sex differences in the associations between lipid levels and incident dementia. *J Alzheimers Dis* 34:519-528.
- Anstey KJ, Jorm AF, Réglade-Meslin C, Maller J, Kumar R, von Sanden C, Windsor TD, Rodgers B, Wen W, Sachdev P (2006) Weekly alcohol consumption, brain atrophy, and white matter hyperintensities in a community-based sample aged 60 to 64 years. *Psychosom Med* 68:778-785.
- Araki Y, Nomura M, Tanaka H, Yamamoto H, Yamamoto T, Tsukaguchi I, Nakamura H (1994) MRI of the brain in diabetes mellitus. *Neuroradiology* 36:101-103.
- Artmann H, Gall MV, Hacker H, Herrlich J (1981) Reversible enlargement of cerebral spinal fluid spaces in chronic alcoholics. *AJNR Am J Neuroradiol* 2:23-27.
- Ashburner J, Friston K (1997) Multimodal image coregistration and partitioning--a unified framework. *NeuroImage* 6:209-217.
- Ashburner J, Friston KJ (2000) Voxel-based morphometry--the methods. *NeuroImage* 11:805-821.

- Autti TH, Hämäläinen J, Mannerkoski M, Van Leemput KV, Aberg LE (2008) JNCL patients show marked brain volume alterations on longitudinal MRI in adolescence. *J Neurol* 255:1226-1230.
- Azevedo FAC, Carvalho LRB, Grinberg LT, Farfel JM, Ferretti REL, Leite REP, Jacob Filho W, Lent R, Herculano-Houzel S (2009) Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J Comp Neurol* 513:532-541.
- Bachstetter AD, Morganti JM, Jernberg J, Schlunk A, Mitchell SH, Brewster KW, Hudson CE, Cole MJ, Harrison JK, Bickford PC, Gemma C (2011) Fractalkine and CX 3 CR1 regulate hippocampal neurogenesis in adult and aged rats. *Neurobiol Aging* 32:2030-2044.
- Badrnya S, Schrottmaier WC, Kral JB, Yaiw K-C, Volf I, Schabbauer G, Söderberg-Nauclér C, Assinger A (2014) Platelets mediate oxidized low-density lipoprotein-induced monocyte extravasation and foam cell formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 34:571-580.
- Barnes J, Ridgway GR, Bartlett J, Henley SMD, Lehmann M, Hobbs N, Clarkson MJ, MacManus DG, Ourselin S, Fox NC (2010) Head size, age and gender adjustment in MRI studies: a necessary nuisance? *NeuroImage* 53:1244-1255.
- Baron JA (1996) Beneficial effects of nicotine and cigarette smoking: the real, the possible and the spurious. *Br Med Bull* 52:58-73.
- Basso M, Gelernter J, Yang J, MacAvoy MG, Varma P, Bronen RA, van Dyck CH (2006) Apolipoprotein E epsilon4 is associated with atrophy of the amygdala in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 27:1416-1424.
- Bastien M, Poirier P, Lemieux I, Després J-P (2014) Overview of Epidemiology and Contribution of Obesity to Cardiovascular Disease. *Prog Cardiovasc Dis* 56:369-381.
- Baumann N, Pham-Dinh D (2001) Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiol Rev* 81:871-927.
- Berchtold NC, Cotman CW (1998) Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s. *Neurobiol Aging* 19:173-189.
- Bero LA (2005) Tobacco industry manipulation of research. *Public Health Rep* 120:200-208.
- Bjartmar C, Hildebrand C, Loinder K (1994) Morphological heterogeneity of rat oligodendrocytes: electron microscopic studies on serial sections. *Glia* 11:235-244.
- Blocq P, Marinesco G (1892) Sur les lésions et la pathogénie de l'épilepsie dite essentielle. *Semaine Médicale* 12:445-6.
- Bobb JF, Schwartz BS, Davatzikos C, Caffo B (2014) Cross-sectional and longitudinal association of body mass index and brain volume. *Hum Brain Mapp* 35:75-88.
- Braak E, Griffing K, Arai K, Bohl J, Bratzke H, Braak H (1999) Neuropathology of Alzheimer's disease: what is new since A. Alzheimer? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249 Suppl 3:14-22.
- Braak H, Braak E (1998) Evolution of neuronal changes in the course of Alzheimer's disease. *J Neural Transm Suppl* 53:127-140.

- Brickman AM, Habeck C, Zarahn E, Flynn J, Stern Y (2007) Structural MRI covariance patterns associated with normal aging and neuropsychological functioning. *Neurobiol Aging* 28:284-295.
- Brody AL, Mandelkern MA, Jarvik ME, Lee GS, Smith EC, Huang JC, Bota RG, Bartzokis G, London ED (2004a) Differences between smokers and nonsmokers in regional gray matter volumes and densities. *Biol Psychiatry* 55:77-84.
- Brody AL, Olmstead RE, London ED, Farahi J, Meyer JH, Grossman P, Lee GS, Huang J, Hahn EL, Mandelkern MA (2004b) Smoking-induced ventral striatum dopamine release. *Am J Psychiatry* 161:1211-1218.
- Bühler M, Mann K (2011) Alcohol and the Human Brain: A Systematic Review of Different Neuroimaging Methods. *Alcohol Clin Exp Res* 35:1771-1793.
- Bullmore E, Sporns O (2012) The economy of brain network organization. *Nat Rev Neurosci* 13:336-349.
- Buyck J-F, Dufouil C, Mazoyer B, Maillard P, Ducimetière P, Alpérovitch A, Bousser M-G, Kurth T, Tzourio C (2009) Cerebral white matter lesions are associated with the risk of stroke but not with other vascular events: the 3-City Dijon Study. *Stroke J Cereb Circ* 40:2327-2331.
- Byerley T, Timbs J (1828) *The Mirror of Literature, Amusement, and Instruction*. J. Limbird.
- Cabeza R, Anderson ND, Locantore JK, McIntosh AR (2002) Aging Gracefully: Compensatory Brain Activity in High-Performing Older Adults. *NeuroImage* 17:1394-1402.
- Campuzano O, Castillo-Ruiz MM, Acarin L, Castellano B, Gonzalez B (2009) Increased levels of proinflammatory cytokines in the aged rat brain attenuate injury-induced cytokine response after excitotoxic damage. *J Neurosci Res* 87:2484-2497.
- Cardenas VA, Chao LL, Blumenfeld R, Song E, Meyerhoff DJ, Weiner MW, Studholme C (2005) Using automated morphometry to detect associations between ERP latency and structural brain MRI in normal adults. *Hum Brain Mapp* 25:317-327.
- Cardenas VA, Du AT, Hardin D, Ezekiel F, Weber P, Jagust WJ, Chui HC, Schuff N, Weiner MW (2003) Comparison of methods for measuring longitudinal brain change in cognitive impairment and dementia. *Neurobiol Aging* 24:537-544.
- Carlen PL, Wortzman G, Holgate RC, Wilkinson DA, Rankin JC (1978) Reversible cerebral atrophy in recently abstinent chronic alcoholics measured by computed tomography scans. *Science* 200:1076-1078.
- Castagnoli K, Murugesan T (2004) Tobacco leaf, smoke and smoking, MAO inhibitors, Parkinson's disease and neuroprotection; are there links? *Neurotoxicology* 25:279-291.
- Cataldo JK, Prochaska JJ, Glantz SA (2010) Cigarette smoking is a risk factor for Alzheimer's Disease: an analysis controlling for tobacco industry affiliation. *J Alzheimers Dis JAD* 19:465-480.
- Chen C-H, Gutierrez ED, Thompson W, Panizzon MS, Jernigan TL, Eyler LT, Fennema-Notestine C, Jak AJ, Neale MC, Franz CE, Lyons MJ, Grant MD, Fischl B, Seidman LJ, Tsuang MT, Kremen WS, Dale AM (2012) Hierarchical Genetic Organization of Human Cortical Surface Area. *Science* 335:1634-1636.

Cherbuin N, Anstey KJ, Sachdev PS, Maller JJ, Meslin C, Mack HA, Wen W, Easteal S (2008) Total and Regional Gray Matter Volume Is Not Related to APOE*E4 Status in a Community Sample of Middle-Aged Individuals. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63:501-504.

Cherbuin N, Mortby ME, Janke AL, Sachdev PS, Abhayaratna WP, Anstey KJ (2014) Blood Pressure, Brain Structure, and Cognition: Opposite Associations in Men and Women. *Am J Hypertens:hpu120* (on line publication).

Cherbuin N, Sachdev P, Anstey KJ (2012) Higher normal fasting plasma glucose is associated with hippocampal atrophy: The PATH Study. *Neurology* 79:1019-1026.

Chung W-S, Clarke LE, Wang GX, Stafford BK, Sher A, Chakraborty C, Joung J, Foo LC, Thompson A, Chen C, Smith SJ, Barres BA (2013) Astrocytes mediate synapse elimination through MEGF10 and MERTK pathways. *Nature* 504:394-400.

Cicéron MT (-44) Œuvres complètes de Cicéron, Tome 4 : *Cato Maior de Senectute*, partie XI.
Disponible en traduction française sous la direction de M. Nisard :
<http://remacle.org/bloodwolf/philosophes/Ciceron/senectute.htm#CAT>

Clark D. D. and Sokoloff, L. (1999) in *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*, eds. Siegel, G. J., Agranoff, B. W., Albers, R. W., Fisher, S. K. & Uhler, M. D. (Lippincott, Philadelphia), pp. 637-670.

Coffey CE, Saxton JA, Ratcliff G, Bryan RN, Lucke JF (1999) Relation of education to brain size in normal aging Implications for the reserve hypothesis. *Neurology* 53:189-189.

Cohen RM, Small C, Lalonde F, Friz J, Sunderland T (2001) Effect of apolipoprotein E genotype on hippocampal volume loss in aging healthy women. *Neurology* 57:2223-2228.

Cox FF, Carney D, Miller A-M, Lynch MA (2012) CD200 fusion protein decreases microglial activation in the hippocampus of aged rats. *Brain Behav Immun* 26:789-796.

Crews FT, Nixon K (2009) Mechanisms of Neurodegeneration and Regeneration in Alcoholism. *Alcohol Alcohol* 44:115-127.

Crivello F, Lemaître H, Dufouil C, Grassiot B, Delcroix N, Tzourio-Mazoyer N, Tzourio C, Mazoyer B (2010) Effects of ApoE-epsilon4 allele load and age on the rates of grey matter and hippocampal volumes loss in a longitudinal cohort of 1186 healthy elderly persons. *NeuroImage* 53:1064-1069.

Crivello F, Tzourio-Mazoyer N, Tzourio C, Mazoyer B (2014) Longitudinal assessment of global and regional rate of grey matter atrophy in 1,172 healthy older adults: modulation by sex and age. *PlosOne* (revised manuscript submitted).

Dale AM, Fischl B, Sereno MI (1999) Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *NeuroImage* 9:179-194.

Damasio AR, Eslinger PJ, Damasio H, Van Hoesen GW, Cornell S (1985) Multimodal amnesic syndrome following bilateral temporal and basal forebrain damage. *Arch Neurol* 42:252-259.

Daniel JM (2013) Estrogens, estrogen receptors, and female cognitive aging: The impact of timing. *Horm Behav* 63:231-237.

Das D, Cherbuin N, Anstey KJ, Sachdev PS, Eastaugh S (2012) Lifetime cigarette smoking is associated with striatal volume measures: Smoking and striatal volume. *Addict Biol* 17:817-825.

Davis SW, Dennis NA, Daselaar SM, Fleck MS, Cabeza R (2008) Que PASA? The Posterior-Anterior Shift in Aging. *Cereb Cortex* 18:1201-1209.

DeBette S, Beiser A, Hoffmann U, DeCarli C, O'Donnell CJ, Massaro JM, Au R, Himali JJ, Wolf PA, Fox CS, Seshadri S (2010) Visceral fat is associated with lower brain volume in healthy middle-aged adults. *Ann Neurol* 68:136-144.

DeBette S, Seshadri S, Beiser A, Au R, Himali JJ, Palumbo C, Wolf PA, DeCarli C (2011) Midlife vascular risk factor exposure accelerates structural brain aging and cognitive decline. *Neurology* 77:461-468.

DeBette S, Wolf C, Lambert J-C, Crivello F, Soumaré A, Zhu Y-C, Schilling S, Dufouil C, Mazoyer B, Amouyel P, Tzourio C, Elbaz A (2014) Abdominal obesity and lower gray matter volume: a Mendelian randomization study. *Neurobiol Aging* 35:378-386.

DeCarli C, Reed T, Miller BL, Wolf PA, Swan GE, Carmelli D (1999) Impact of Apolipoprotein E ϵ 4 and Vascular Disease on Brain Morphology in Men From the NHLBI Twin Study. *Stroke* 30:1548-1553.

DeLisi LE, Sakuma M, Tew W, Kushner M, Hoff AL, Grimson R (1997) Schizophrenia as a chronic active brain process: a study of progressive brain structural change subsequent to the onset of schizophrenia. *Psychiatry Res* 74:129-140.

Demirakca T, Ende G, Kämmerer N, Welzel-Marquez H, Hermann D, Heinz A, Mann K (2011) Effects of alcoholism and continued abstinence on brain volumes in both genders. *Alcohol Clin Exp Res* 35:1678-1685.

Den Heijer T, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MMB (2005) Serum lipids and hippocampal volume: The link to Alzheimer's disease? *Ann Neurol* 57:779-780.

Den Heijer T, Oudkerk M, Launer LJ, van Duijn CM, Hofman A, Breteler MMB (2002) Hippocampal, amygdalar, and global brain atrophy in different apolipoprotein E genotypes. *Neurol* 59:746-748.

Diallo B, Dolidon F, Traverso JM, Mazoyer B (1998) VoxLine: a software program for 3D real-time visualization of biomedical images. *Comput Med Imaging Graph* 22:275-289.

Dickerson TJ, Janda KD (2003) Glycation of the amyloid beta-protein by a nicotine metabolite: a fortuitous chemical dynamic between smoking and Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:8182-8187.

Draganski B, Gaser C, Busch V, Schuierer G, Bogdahn U, May A (2004) Neuroplasticity: changes in grey matter induced by training. *Nature* 427:311-312.

Driscoll I, Davatzikos C, An Y, Wu X, Shen D, Kraut M, Resnick SM (2009) Longitudinal pattern of regional brain volume change differentiates normal aging from MCI. *Neurology* 72:1906-1913.

Duan H, Wearne SL, Rocher AB, Macedo A, Morrison JH, Hof PR (2003) Age-related dendritic and spine changes in corticocortically projecting neurons in macaque monkeys. *Cereb Cortex* 13:950-961.

Dumitriu D, Hao J, Hara Y, Kaufmann J, Janssen WGM, Lou W, Rapp PR, Morrison JH (2010) Selective changes in thin spine density and morphology in monkey prefrontal cortex correlate with aging-related cognitive impairment. *J Neurosci* 30:7507-7515.

Dumurgier J, Crivello F, Mazoyer B, Ahmed I, Tavernier B, Grabli D, François C, Tzourio-Mazoyer N, Tzourio C, Elbaz A (2012) MRI atrophy of the caudate nucleus and slower walking speed in the elderly. *NeuroImage* 60:871-878.

Durazzo TC, Insel PS, Weiner MW (2012) Greater regional brain atrophy rate in healthy elderly subjects with a history of cigarette smoking. *Alzheimers Dement* 8:513-519.

Durazzo TC, Meyerhoff DJ, Nixon SJ (2013) Interactive effects of chronic cigarette smoking and age on hippocampal volumes. *Drug Alcohol Depend* 133:704-711.

Durazzo TC, Mon A, Pennington D, Abé C, Gazdzinski S, Meyerhoff DJ (2014) Interactive effects of chronic cigarette smoking and age on brain volumes in controls and alcohol-dependent individuals in early abstinence. *Addict Biol* 19:132-143.

Eickhoff S, Walters NB, Schleicher A, Kril J, Egan GF, Zilles K, Watson JDG, Amunts K (2005) High-resolution MRI reflects myeloarchitecture and cytoarchitecture of human cerebral cortex. *Hum Brain Mapp* 24:206-215.

Elbejjani M, Fuhrer R, Abrahamowicz M, Mazoyer B, Crivello F, Tzourio C, Dufouil C (2014) Hippocampal Atrophy and Subsequent Depressive Symptoms in Older Men and Women: Results From a 10-Year Prospective Cohort. *Am J Epidemiol*:kww132.

Enzinger C, Fazekas F, Matthews PM, Ropele S, Schmidt H, Smith S, Schmidt R (2005) Risk factors for progression of brain atrophy in aging Six-year follow-up of normal subjects. *Neurology* 64:1704-1711.

Erhardt L (2009) Cigarette smoking: An undertreated risk factor for cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 205:23-32.

Erkinjuntti T, Lee DH, Gao F, et al (1993) TEmporal lobe atrophy on magnetic resonance imaging in the diagnosis of early alzheimer's disease. *Arch Neurol* 50:305-310.

Esiri M (2007) Ageing and the brain. *J Pathol* 211:181-187.

Espeland MA, Rapp SR, Shumaker SA, Brunner R, Manson JE, Sherwin BB, Hsia J, Margolis KL, Hogan PE, Wallace R, Dailey M, Freeman R, Hays J (2004) Conjugated equine estrogens and global cognitive function in postmenopausal women: Women's Health Initiative Memory Study. *J Am Med Assoc* 291:2959-2968.

Espeseth T, Westlye LT, Fjell AM, Walhovd KB, Rootwelt H, Reinvang I (2008) Accelerated age-related cortical thinning in healthy carriers of apolipoprotein E epsilon 4. *Neurobiol Aging* 29:329-340.

Fein G, McGillivray S (2007) Cognitive performance in long-term abstinent elderly alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 31:1788-1799.

Fein G, Torres J, Price LJ, Di Sclafani V (2006) Cognitive Performance in Long-Term Abstinent Alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 30:1538-1544.

Feldman RG, Chandler AC, Levy LL, Glaser GH (1963) Familial Alzheimer's disease. *Neurology* 13:811-824.

Feliciano DM, Bordey A (2013) Newborn cortical neurons: only for neonates? *Trends Neurosci* 36:51-61.

Fischbach, G. 1992. Le cerveau et la pensée. *Pour la Science* 33.

Fischl B, Dale AM (2000) Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:11050-11055.

Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, van der Kouwe A, Killiany R, Kennedy D, Klaveness S, others (2002) Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 33:341-355.

Fischl B, Salat DH, van der Kouwe AJW, Makris N, Ségonne F, Quinn BT, Dale AM (2004) Sequence-independent segmentation of magnetic resonance images. *NeuroImage* 23:S69-S84.

Fischl B, Sereno MI, Dale AM (1999) Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *NeuroImage* 9:195-207.

Fjell AM, McEvoy L, Holland D, Dale AM, Walhovd KB (2014) What is normal in normal aging? Effects of aging, amyloid and Alzheimer's disease on the cerebral cortex and the hippocampus. *Prog Neurobiol* 117:20-40.

Fjell AM, Walhovd KB (2010) Structural brain changes in aging: courses, causes and cognitive consequences. *Rev Neurosci* 21:187-221.

Fjell AM, Walhovd KB, Fennema-Notestine C, McEvoy LK, Hagler DJ, Holland D, Brewer JB, Dale AM (2009a) One year brain atrophy evident in healthy aging. *J Neurosci* 29:15223-15231.

Fjell AM, Westlye LT, Amlie I, Espeseth T, Reinvang I, Raz N, Agartz I, Salat DH, Greve DN, Fischl B, Dale AM, Walhovd KB (2009b) High consistency of regional cortical thinning in aging across multiple samples. *Cereb Cortex* 9:2001-2012.

Fjell AM, Westlye LT, Amlie I, Espeseth T, Reinvang I, Raz N, Agartz I, Salat DH, Greve DN, Fischl B, Dale AM, Walhovd KB (2009c) Minute Effects of Sex on the Aging Brain: A Multisample Magnetic Resonance Imaging Study of Healthy Aging and Alzheimer's Disease. *J Neurosci* 29:8774-8783.

Fjell AM, Westlye LT, Grydeland H, Amlie I, Espeseth T, Reinvang I, Raz N, Holland D, Dale AM, Walhovd KB (2013) Critical ages in the life course of the adult brain: nonlinear subcortical aging. *Neurobiol Aging* 34:2239-2247.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12:189-198.

Ford AL, Goodsall AL, Hickey WF, Sedgwick JD (1995) Normal adult ramified microglia separated from other central nervous system macrophages by flow cytometric sorting. Phenotypic differences defined and direct ex vivo antigen presentation to myelin basic protein-reactive CD4+ T cells compared. *J Immunol Baltim Md 1950* 154:4309-4321.

Fotenos AF, Mintun MA, Snyder AZ, Morris JC, Buckner RL (2008) Brain volume decline in aging: Evidence for a relation between socioeconomic status, preclinical alzheimer disease, and reserve. *Arch Neurol* 65:113-120.

Fotenos AF, Snyder AZ, Girton LE, Morris JC, Buckner RL (2005) Normative estimates of cross-sectional and longitudinal brain volume decline in aging and AD. *Neurology* 64:1032-1039.

Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu C-Y, Vasan RS, Murabito JM, Meigs JB, Cupples LA, D'Agostino RB, O'Donnell CJ (2007) Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 116:39-48.

Franke K, Ristow M, Gaser C (2014) Gender-specific impact of personal health parameters on individual brain aging in cognitively unimpaired elderly subjects. *Front Aging Neurosci* 6:94..

Franklin TR, Wetherill RR, Jagannathan K, Johnson B, Mumma J, Hager N, Rao H, Childress AR (2014) The Effects of Chronic Cigarette Smoking on Gray Matter Volume: Influence of Sex Zang Y-F, ed. *PLoS ONE* 9:e104102.

Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ, Poline J-P, Frith CD, Frackowiak RSJ (1994) Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Hum Brain Mapp* 2:189-210.

Fritz H-C, Wittfeld K, Schmidt CO, Domin M, Grabe HJ, Hegenscheid K, Hosten N, Lotze M (2014) Current Smoking and Reduced Gray Matter Volume-a Voxel-Based Morphometry Study. *Neuropsychopharmacol* 39:2594-2600.

Fukumoto, N., Fujii, T., Combarros, O., Kamboh, M. I., Tsai, S.-J., Matsushita, S., Nacmias, B., Comings, D. E., Arboleda, H., Ingelsson, M., *et al.* (2010). Sexually dimorphic effect of the Val66Met polymorphism of BDNF on susceptibility to Alzheimer's disease: New data and meta-analysis. *Am. J. Med. Genet. Part B Neuropsychiatr. Genet. Off. Publ. Int. Soc. Psychiatr. Genet.* 153B, 235-242. doi:10.1002/ajmg.b.30986.

Fusco S, Pani G (2013) Brain response to calorie restriction. *Cell Mol Life Sci* 70:3157-3170.

Galanis DJ, Joseph C, Masaki KH, Petrovitch H, Ross GW, White L (2000) A longitudinal study of drinking and cognitive performance in elderly Japanese American men: the Honolulu-Asia Aging Study. *Am J Public Health* 90:1254-1259.

Gallagher D, Visser M, Sepúlveda D, Pierson RN, Harris T, Heymsfield SB (1996) How useful is body mass index for comparison of body fatness across age, sex, and ethnic groups? *Am J Epidemiol* 143:228-239.

Gallinat J, Meisenzahl E, Jacobsen LK, Kalus P, Bierbrauer J, Kienast T, Witthaus H, Leopold K, Seifert F, Schubert F, Staedtgen M (2006) Smoking and structural brain deficits: a volumetric MR investigation. *Eur J Neurosci* 24:1744-1750.

García-Montes J-R, Boronat-García A, López-Colomé A-M, Bargas J, Guerra-Crespo M, Drucker-Colín R (2012) Is nicotine protective against Parkinson's disease? An experimental analysis. *CNS Neurol Disord - Drug Targets* 11:897-906.

Garibotto V, Borroni B, Kalbe E, Herholz K, Salmon E, Holtoff V, Sorbi S, Cappa SF, Padovani A, Fazio F, Perani D (2008) Education and occupation as proxies for reserve in aMCI converters and AD:

FDG-PET evidence. *Neurology* 71:1342-1349.

Garrido R, Mattson MP, Hennig B, Toborek M (2001) Nicotine protects against arachidonic-acid-induced caspase activation, cytochrome c release and apoptosis of cultured spinal cord neurons. *J Neurochem* 76:1395-1403.

Geroldi C, Pihlajamäki M, Laakso MP, DeCarli C, Beltramello A, Bianchetti A, Soininen H, Trabucchi M, Frisoni GB (1999) APOE-epsilon4 is associated with less frontal and more medial temporal lobe atrophy in AD. *Neurology* 53:1825-1832.

Ge Y, Grossman RI, Babb JS, Rabin ML, Mannon LJ, Kolson DL (2002) Age-related total gray matter and white matter changes in normal adult brain. Part I: volumetric MR imaging analysis. *Am J Neuroradiol* 23:1327-1333.

Gibbs RB (2010) Estrogen Therapy and Cognition: A Review of the Cholinergic Hypothesis. *Endocr Rev* 31:224-253.

Gicquel S. Détection, Quantification et localisation automatiques des hypersignaux de la substance blanche en imagerie par résonance magnétique. Thèse de doctorat de l'Université de Caen Basse-Normandie (1998).

Godin O, Dufouil C, Maillard P, Delcroix N, Mazoyer B, Crivello F, Alperovitch A, Tzourio C (2008) White matter lesions as a predictor of depression in the elderly: the 3C-Dijon study. *Biol Psychiatry* 63:663-669.

Godin O, Maillard P, Crivello F, Alperovitch A, Mazoyer B, Tzourio C, Dufouil C (2009) Association of White-Matter Lesions with Brain Atrophy Markers: The Three-City Dijon MRI Study. *Cerebrovasc Dis* 28:177-184.

Godin O, Tzourio C, Maillard P, Mazoyer B, Dufouil C (2011) Antihypertensive treatment and change in blood pressure are associated with the progression of white matter lesion volumes: the Three-City (3C)-Dijon Magnetic Resonance Imaging Study. *Circulation* 123:266-273.

Goniewicz ML, Knysak J, Gawron M, Kosmider L, Sobczak A, Kurek J, Prokopowicz A, Jablonska-Czapla M, Rosik-Dulewska C, Havel C, Jacob P, Benowitz N (2014) Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes. *Tob Control* 23:133-139.

Gong G, Rosa-Neto P, Carbonell F, Chen ZJ, He Y, Evans AC (2009) Age- and Gender-Related Differences in the Cortical Anatomical Network. *J Neurosci* 29:15684-15693.

Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RNA, Friston KJ, Frackowiak RSJ (2001) A Voxel-Based Morphometric Study of Ageing in 465 Normal Adult Human Brains. *NeuroImage* 14:21-36.

Gordon T, Sorlie P, Kannel WB (1976) Problems in the assessment of blood pressure: the Framingham Study. *Int J Epidemiol* 5:327-334.

Gorell JM, Rybicki BA, Johnson CC, Peterson EL (1999) Smoking and Parkinson's disease: a dose-response relationship. *Neurology* 52:115-119.

Grady S, Marks MJ, Wonnacott S, Collins AC (1992) Characterization of nicotinic receptor-mediated [3H]dopamine release from synaptosomes prepared from mouse striatum. *J Neurochem* 59:848-856.

Grassiot B. Caractérisation du déclin neuro-anatomique chez le sujet âgé sain : étude par IRM de la cohorte longitudinale des Trois Cités. Thèse de doctorat de l'Université de Caen Basse-Normandie (2006).

Greenberg DL, Fetzter DL, Payne ME, MacFall JR, Provenzale JM, Steffens DC, Krishnan RR (2008) Aging, gender, and the elderly adult brain: an examination of analytical strategies. *Neurobiol Aging* 29:290-302.

Gur RC, Mozley PD, Resnick SM, Gottlieb GL, Kohn M, Zimmerman R, Herman G, Atlas S, Grossman R, Berretta D, Erwin R, Gur RE (1991) Gender differences in age effect on brain atrophy measured by magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:2845-2849.

Hafsteinsdottir SH, Eiriksdottir G, Sigurdsson S, Aspelund T, Harris TB, Launer LJ, Gudnason V (2012) Brain tissue volumes by APOE genotype and leisure activity—the AGES-Reykjavik Study. *Neurobiol Aging* 33:829.e1-e829.e8.

Hall CB, Derby C, LeValley A, Katz MJ, Verghese J, Lipton RB (2007) Education delays accelerated decline on a memory test in persons who develop dementia. *Neurology* 69:1657-1664.

Halpert BP (1983) Development of the term “senility” as a medical diagnosis. *Minn Med* 66:421-424.

Haltia LT, Viljanen A, Parkkola R, Kemppainen N, Rinne JO, Nuutila P, Kaasinen V (2007) Brain White Matter Expansion in Human Obesity and the Recovering Effect of Dieting. *J Clin Endocrinol Amp Metab* 92:3278-3284.

Hamilton G, Proitsi P, Jehu L, Morgan A, Williams J, O'Donovan MC, Owen MJ, Powell JF, Lovestone S (2007) Candidate gene association study of insulin signaling genes and Alzheimer's disease: Evidence for SOS2, PCK1, and PPAR γ as susceptibility loci. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 144B:508-516.

Hammond EC (1966) Smoking in relation to the death rates of one million men and women. *Natl Cancer Inst Monogr* 19:127-204.

Harding AJ, Wong A, Svoboda M, Kril JJ, Halliday GM (1997) Chronic alcohol consumption does not cause hippocampal neuron loss in humans. *Hippocampus* 7:78-87.

Hashimoto M, Yasuda M, Tanimukai S, Matsui M, Hirono N, Kazui H, Mori E (2001) Apolipoprotein E ϵ 4 and the pattern of regional brain atrophy in Alzheimer's disease. *Neurology* 57:1461-1466.

Hecht EM, Landy DC, Ahn S, Hlaing WM, Hennekens CH (2013) Hypothesis: cadmium explains, in part, why smoking increases the risk of cardiovascular disease. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 18:550-554.

Hedman AM, van Haren NEM, Schnack HG, Kahn RS, Hulshoff Pol HE (2012) Human brain changes across the life span: A review of 56 longitudinal magnetic resonance imaging studies. *Hum Brain Mapp* 33:1987-2002.

Henneberger C, Papouin T, Oliet SHR, Rusakov DA (2010) Long-term potentiation depends on release of d-serine from astrocytes. *Nature* 463:232-236.

Henningfield JE, Miyasato K, Jasinski DR (1985) Abuse liability and pharmacodynamic characteristics of intravenous and inhaled nicotine. *J Pharmacol Exp Ther* 234:1-12.

Herculano-Houzel S, Herculano-Houzel S (2009) The human brain in numbers: a linearly scaled-up primate brain. *Front Hum Neurosci* 3:31.

Hilgetag CC, Barbas H (2009) Are there ten times more glia than neurons in the brain? *Brain Struct Funct* 213:365-366.

Hill J, Inder T, Neil J, Dierker D, Harwell J, Van Essen D (2010) Similar patterns of cortical expansion during human development and evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:13135-13140.

Hinman JD, Abraham CR (2007) What's Behind the Decline? The Role of White Matter in Brain Aging. *Neurochem Res* 32:2023-2031.

Hof PR, Mobbs CV (2009) *Handbook of the Neuroscience of Aging*. Elsevier Science. Available at: <http://books.google.fr/books?id=956Hnpvn2tIC>.

Hof PR, Morrison JH (2004) The aging brain: morphomolecular senescence of cortical circuits. *Trends Neurosci* 27:607-613.

Hommer D, Momenan R, Kaiser E, Rawlings R (2001) Evidence for a gender-related effect of alcoholism on brain volumes. *Am J Psychiatry* 158:198-204.

Hoogendam YY, van der Geest JN, van der Lijn F, van der Lugt A, Niessen WJ, Krestin GP, Hofman A, Vernooij MW, Breteler MMB, Ikram MA (2012) Determinants of cerebellar and cerebral volume in the general elderly population. *Neurobiol Aging* 33:2774-2781.

Hopkins SJ, Rothwell NJ (1995) Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends Neurosci* 18:83-88.

Horsburgh K, Nicoll JAR (1996) Selective alterations in the cellular distribution of apolipoprotein E immunoreactivity following transient cerebral ischaemia in the rat. *Neuropathol Appl Neurobiol* 22:342-349.

Hostage CA, Roy Choudhury K, Doraiswamy PM, Petrella JR, for the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2013) Dissecting the Gene Dose-Effects of the APOE ϵ 4 and ϵ 2 Alleles on Hippocampal Volumes in Aging and Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* 8:e54483.

Houdé O, Mazoyer B, Tzourio-Mazoyer N (2002) *Cerveau et psychologie: introduction à l'imagerie cérébrale anatomique et fonctionnelle*. Presses universitaires de France.

Howard LA, Miksys S, Hoffmann E, Mash D, Tyndale RF (2003) Brain CYP2E1 is induced by nicotine and ethanol in rat and is higher in smokers and alcoholics. *Br J Pharmacol* 138:1376-1386.

Ikram MA, Vrooman HA, Vernooij MW, van der Lijn F, Hofman A, van der Lugt A, Niessen WJ, Breteler MMB (2008) Brain tissue volumes in the general elderly population. *Neurobiol Aging* 29:882-890.

Jack CR, Petersen RC, O'Brien PC, Tangalos EG (1992) MR-based hippocampal volumetry in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology* 42:183-188.

Jacobs B, Driscoll L, Schall M (1997) Life-span dendritic and spine changes in areas 10 and 18 of human cortex: A quantitative golgi study. *J Comp Neurol* 386:661-680.

Jernigan TL, Archibald SL, Berhow MT, Sowell ER, Foster DS, Hesselink JR (1991) Cerebral structure on MRI, Part I: Localization of age-related changes. *Biol Psychiatry* 29:55-67.

Jernigan TL, Archibald SL, Fennema-Notestine C, Gamst AC, Stout JC, Bonner J, Hesselink JR (2001) Effects of age on tissues and regions of the cerebrum and cerebellum. *Neurobiol Aging* 22:581-594.

Kabaso D, Coskren PJ, Henry BI, Hof PR, Wearne SL (2009) The electrotonic structure of pyramidal neurons contributing to prefrontal cortical circuits in macaque monkeys is significantly altered in aging. *Cereb Cortex* 19:2248-2268.

Kalpouzos G, Chételat G, Baron J-C, Landeau B, Mevel K, Godeau C, Barré L, Constans J-M, Viader F, Eustache F, Desgranges B (2009) Voxel-based mapping of brain gray matter volume and glucose metabolism profiles in normal aging. *Neurobiol Aging* 30:112-124.

Katzman R, Terry R, DeTeresa R, Brown T, Davies P, Fuld P, Renbing X, Peck A (1988) Clinical, pathological, and neurochemical changes in dementia: a subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann Neurol* 23:138-144.

Kemppainen NM, Aalto S, Karrasch M, Någren K, Savisto N, Oikonen V, Viitanen M, Parkkola R, Rinne JO (2008) Cognitive reserve hypothesis: Pittsburgh Compound B and fluorodeoxyglucose positron emission tomography in relation to education in mild Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 63:112-118.

Kesslak JP, Nalcioglu O, Cotman CW (1991) Quantification of magnetic resonance scans for hippocampal and parahippocampal atrophy in Alzheimer's disease. *Neurology* 41:51-54.

Komiya Y (1980) Slowing with age of the rate of slow axonal flow in bifurcating axons of rat dorsal root ganglion cells. *Brain Res* 183:477-480.

Kotani K, Tokunaga K, Fujioka S, Kobatake T, Keno Y, Yoshida S, Shimomura I, Tarui S, Matsuzawa Y (1994) Sexual dimorphism of age-related changes in whole-body fat distribution in the obese. *Int J Obes Relat Metab Disord* 18:207-202.

Kruggel F (2006) MRI-based volumetry of head compartments: normative values of healthy adults. *NeuroImage* 30:1-11.

Launer LJ, Feskens EJ, Kalmijn S, Kromhout D (1996) Smoking, drinking, and thinking. The Zutphen Elderly Study. *Am J Epidemiol* 143:219-227.

Lehtovirta M, Laakso MP, Soininen H, Helisalmi S, Mannerman A, Helkala EL, Partanen K, Ryyänänen M, Vainio P, Hartikainen P (1995) Volumes of hippocampus, amygdala and frontal lobe in Alzheimer patients with different apolipoprotein E genotypes. *Neuroscience* 67:65-72.

Lemaître H, Crivello F, Dufouil C, Grassiot B, Tzourio C, Alperovitch A, Mazoyer B (2005a) No $\epsilon 4$ gene dose effect on hippocampal atrophy in a large MRI database of healthy elderly subjects. *NeuroImage* 24:1205-1213.

Lemaître H, Crivello F, Grassiot B, Alperovitch A, Tzourio C, Mazoyer B (2005b) Age- and sex-related effects on the neuroanatomy of healthy elderly. *NeuroImage* 26:900-911.

Lemaître H. Marqueurs et facteurs de risque du vieillissement neuroanatomique : étude de la cohorte EVA-IRM. Thèse de doctorat de l'Université de Caen Basse-Normandie (2005).

Leonard CM, Towler S, Welcome S, Halderman LK, Otto R, Eckert MA, Chiarello C (2008) Size Matters: Cerebral Volume Influences Sex Differences in Neuroanatomy. *Cereb Cortex* 18:2920-2931.

Leroi I, Sheppard J-M, Lyketsos CG (2002) Cognitive function after 11.5 years of alcohol use: relation to alcohol use. *Am J Epidemiol* 156:747-752.

Liao Y, Tang J, Liu T, Chen X, Hao W (2010) Differences between smokers and non-smokers in regional gray matter volumes: a voxel-based morphometry study. *Add Biol* 17:977-980.

Lieberman JA, Tollefson GD, Charles C, Zipursky R, Sharma T, Kahn RS, Keefe RSE, Green AI, Gur RE, McEvoy J, Perkins D, Hamer RM, Gu H, Tohen M, HGDH Study Group (2005) Antipsychotic drug effects on brain morphology in first-episode psychosis. *Arch Gen Psychiatry* 62:361-370.

Lind J, Larsson A, Persson J, Ingvar M, Nilsson L-G, Bäckman L, Adolfsson R, Cruts M, Sleegers K, Van Broeckhoven C, Nyberg L (2006) Reduced hippocampal volume in non-demented carriers of the apolipoprotein E ϵ 4: Relation to chronological age and recognition memory. *Neurosci Lett* 396:23-27.

Lin F, Wu G, Zhu L, Lei H (2013) Heavy smokers show abnormal microstructural integrity in the anterior corpus callosum: A diffusion tensor imaging study with tract-based spatial statistics. *Drug Alcohol Depend* 129:82-87.

Liu RSN, Lemieux L, Bell GS, Sisodiya SM, Shorvon SD, Sander JWAS, Duncan JS (2003) A longitudinal study of brain morphometrics using quantitative magnetic resonance imaging and difference image analysis. *NeuroImage* 20:22-33.

Liu Y, Julkunen V, Paajanen T, Westman E, Wahlund L-O, Aitken A, Sobow T, Mecocci P, Tsolaki M, Vellas B, Muehlboeck S, Spenger C, Lovestone S, Simmons A, Soininen H (2012) Education increases reserve against Alzheimer's disease—evidence from structural MRI analysis. *Neuroradiology* 54:929-938.

Longstreth Jr. WT, Arnold AM, Manolio TA, Burke GL, Bryan N, Jungreis CA, O'Leary D, Enright PL, Fried L (2000) Clinical Correlates of Ventricular and Sulcal Size on Cranial Magnetic Resonance Imaging of 3,301 Elderly People. *Neuroepidemiology* 19:30-42.

Lowenberg K, Waggoner RW (1934) Familial organic psychosis (Alzheimer's type). *Arch. Neurol. Psychiat.* 31:737-754.

Lu T, Pan Y, Kao S-Y, Li C, Kohane I, Chan J, Yankner BA (2004) Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature* 429:883-891.

Maguire EA, Gadian DG, Johnsrude IS, Good CD, Ashburner J, Frackowiak RS, Frith CD (2000) Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:4398-4403.

Mai H, May WS, Gao F, Jin Z, Deng X (2003) A functional role for nicotine in Bcl2 phosphorylation and suppression of apoptosis. *J Biol Chem* 278:1886-1891.

Maillard P, Delcroix N, Crivello F, Dufouil C, Gicquel S, Joliot M, Tzourio-Mazoyer N, Alperovitch A, Tzourio C, Mazoyer B (2008) An automated procedure for the assessment of white matter hyperintensities by multispectral (T1, T2, PD) MRI and an evaluation of its between-centre reproducibility based on two large community databases. *Neuroradiology* 50:31-42.

Maillard P, Seshadri S, Beiser A, Himali JJ, Au R, Fletcher E, Carmichael O, Wolf PA, DeCarli C (2012) Effects of systolic blood pressure on white-matter integrity in young adults in the Framingham Heart Study: a cross-sectional study. *Lancet Neurol* 11:1039-1047.

Maillard P. Vieillissement et hypersignaux de la substance blanche : Détection automatique et application à l'analyse de grandes cohortes. Thèse de doctorat de l'Université de Caen Basse-Normandie (2008).

Mann K, Opitz H, Petersen D, Schroth G, Heimann H (1989) Intracranial CSF volumetry in alcoholics: studies with MRI and CT. *Psychiatry Res* 29:277-279.

Marcus DS, Wang TH, Parker J, Csernansky JG, Morris JC, Buckner RL (2007) Open Access Series of Imaging Studies (OASIS): cross-sectional MRI data in young, middle aged, nondemented, and demented older adults. *J Cogn Neurosci* 19:1498-1507.

Marín-Padilla M (2012) The human brain intracerebral microvascular system: development and structure. *Front Neuroanat* 6:38.

Marner L, Nyengaard JR, Tang Y, Pakkenberg B (2003) Marked loss of myelinated nerve fibers in the human brain with age. *J Comp Neurol* 462:144-152.

Marsh R, Gerber AJ, Peterson BS (2008) Neuroimaging studies of normal brain development and their relevance for understanding childhood neuropsychiatric disorders. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 47:1233-1251.

Matarredona ER, Santiago M, Venero JL, Cano J, Machado A (2001) Group II metabotropic glutamate receptor activation protects striatal dopaminergic nerve terminals against MPP⁺-induced neurotoxicity along with brain-derived neurotrophic factor induction. *J Neurochem* 76:351-360.

McGrew RE (1985) Encyclopedia of medical history.

McQuarrie IG, Brady ST, Lasek RJ (1989) Retardation in the slow axonal transport of cytoskeletal elements during maturation and aging. *Neurobiol Aging* 10:359-365.

McTigue DM, Tripathi RB (2008) The life, death, and replacement of oligodendrocytes in the adult CNS. *J Neurochem* 107:1-19.

Meier-Ruge W, Ulrich J, Brühlmann M, Meier E (1992) Age-related white matter atrophy in the human brain. *Ann N Y Acad Sci* 673:260-269.

Ment LR, Kesler S, Vohr B, Katz KH, Baumgartner H, Schneider KC, Delancy S, Silbereis J, Duncan CC, Constable RT, Makuch RW, Reiss AL (2009) Longitudinal brain volume changes in preterm and term control subjects during late childhood and adolescence. *Pediatrics* 123:503-511.

Menzel HJ, Kladetzky RG, Assmann G (1983) Apolipoprotein E polymorphism and coronary artery disease. *Arterioscler* 3:310-315.

Mielke MM, Vemuri P, Rocca WA (2014) Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences. *Clin Epidemiol* 6:37-48.

Miksys S, Hoffmann E, Tyndale RF (2000) Regional and cellular induction of nicotine-metabolizing

CYP2B1 in rat brain by chronic nicotine treatment. *Biochem Pharmacol* 59:1501-1511.

Miller AK, Alston RL, Corsellis JA (1980) Variation with age in the volumes of grey and white matter in the cerebral hemispheres of man: measurements with an image analyser. *Neuropathol Appl Neurobiol* 6:119-132.

Moffat SD, Szekely CA, Zonderman AB, Kabani NJ, Resnick SM (2000) Longitudinal change in hippocampal volume as a function of apolipoprotein E genotype. *Neurology* 55:134-136.

Morales AM, Lee B, Hellemann G, O'Neill J, London ED (2012) Gray-matter volume in methamphetamine dependence: cigarette smoking and changes with abstinence from methamphetamine. *Drug Alcohol Depend* 125:230-238.

Morens DM, Grandinetti A, Reed D, White LR, Ross GW (1995) Cigarette smoking and protection from Parkinson's disease: false association or etiologic clue? *Neurology* 45:1041-1051.

Mori E, Lee K, Yasuda M, Hashimoto M, Kazui H, Hirono N, Matsui M (2002) Accelerated hippocampal atrophy in Alzheimer's disease with apolipoprotein E ϵ 4 allele. *Ann Neurol* 51:209-214.

Moroney JT, Tang M, Berglund L, et al (1999) Low-density lipoprotein cholesterol and the risk of dementia with stroke. *JAMA* 282:254-260.

Morrison JH, Baxter MG (2012) The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nat Rev Neurosci* 13:240-260.

Mortamais M, Reynes C, Brickman AM, Provenzano FA, Muraskin J, Portet F, Berr C, Touchon J, Bonafe A, le Bars E, Maller JJ, Meslin C, Sabatier R, Ritchie K, Artero S (2013) Spatial Distribution of Cerebral White Matter Lesions Predicts Progression to Mild Cognitive Impairment and Dementia. *PLoS ONE* 8 e56972.

Mosca L, Barrett-Connor E, Wenger NK (2011) Sex/Gender Differences in Cardiovascular Disease Prevention What a Difference a Decade Makes. *Circulation* 124:2145-2154.

Mosher KI, Wyss-Coray T (2014) Microglial dysfunction in brain aging and Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol* 88:594-604.

Mrak RE, Griffin WST (2005) Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiol Aging* 26:349-354.

Mueller EA, Moore MM, Kerr DC, Sexton G, Camicioli RM, Howieson DB, Quinn JF, Kaye JA (1998) Brain volume preserved in healthy elderly through the eleventh decade. *Neurology* 51:1555-1562.

Mukamal KJ, Longstreth WT, Mittleman MA, Crum RM, Siscovick DS, Berezcki D (2001) Alcohol Consumption and Subclinical Findings on Magnetic Resonance Imaging of the Brain in Older Adults: The Cardiovascular Health Study Editorial Comment: The Cardiovascular Health Study. *Stroke* 32:1939-1946.

Muuronen A, Bergman H, Hindmarsh T, Telakivi T (1989) Influence of improved drinking habits on brain atrophy and cognitive performance in alcoholic patients: a 5-year follow-up study. *Alcohol Clin Exp Res* 13:137-141.

Naftolin F, Taylor HS, Karas R, Brinton E, Newman I, Clarkson TB, Mendelsohn M, Lobo RA, Judelson

DR, Nachtigall LE, Heward CB, Hecht H, Jaff MR, Harman SM (2004) The Women's Health Initiative could not have detected cardioprotective effects of starting hormone therapy during the menopausal transition. *Fertil Steril* 81:1498-1501.

Nagy Z, Esiri MM, Jobst KA, Johnston C, Litchfield S, Sim E, Smith AD (1995) Influence of the apolipoprotein E genotype on amyloid deposition and neurofibrillary tangle formation in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 69:757-761.

Namba Y, Tomonaga M, Kawasaki H, Otomo E, Ikeda K (1991) Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res* 541:163-166.

Neuropathology Group. Medical Research Council Cognitive Function and Aging Study (2001) Pathological correlates of late-onset dementia in a multicentre, community-based population in England and Wales. Neuropathology Group of the Medical Research Council Cognitive Function and Ageing Study (MRC CFAS). *Lancet* 357:169-175.

NOEIE Panel (1998) NHLBI Obesity Education Initiative Expert Panel on the Identification, Evaluation, and Treatment of Obesity in Adults. National Heart, Lung, and Blood Institute. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2003/>

Nordskog BK, Blixt AD, Morgan WT, Fields WR, Hellmann GM (2003) Matrix-degrading and pro-inflammatory changes in human vascular endothelial cells exposed to cigarette smoke condensate. *Cardiovasc Toxicol* 3:101-117.

Novella S, Heras M, Hermenegildo C, Dantas AP (2012) Effects of estrogen on vascular inflammation: a matter of timing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32:2035-2042.

Obata T, Aomine M, Inada T, Kinemuchi H (2002) Nicotine suppresses 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced hydroxyl radical generation in rat striatum. *Neurosci Lett* 330:122-124.

O'Neill J, Cardenas VA, Meyerhoff DJ (2001) Effects of Abstinence on the Brain: Quantitative Magnetic Resonance Imaging and Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging in Chronic Alcohol Abuse. *Alcohol Clin Exp Res* 25:1673-1682.

O'Neill MJ, Murray TK, Lakics V, Visanji NP, Duty S (2002) The role of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in acute and chronic neurodegeneration. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1:399-411.

OMS (2006) Health, history and hard choices: Funding dilemmas in a fast-changing world. http://www.who.int/global_health_histories/seminars/presentation07.pdf

OMS (2014) WHO Fact Sheet n° 339 : Tobacco. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs339/en/>

Orgogozo JM, Dartigues JF, Lafont S, Letenneur L, Commenges D, Salamon R, Renaud S, Breteler MB (1997) Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area. *Rev Neurol (Paris)* 153:185-192.

Orr CF, Rowe DB, Halliday GM (2002) An inflammatory review of Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 68:325-340.

Pakkenberg B, Gundersen HJ (1997) Neocortical neuron number in humans: effect of sex and age. *J*

Comp Neurol 384:312-320.

Pan P, Shi H, Zhong J, Xiao P, Shen Y, Wu L, Song Y, He G (2013) Chronic smoking and brain gray matter changes: evidence from meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol* 34:813-817.

Park DC, Reuter-Lorenz P (2009) The Adaptive Brain: Aging and Neurocognitive Scaffolding. *Annu Rev Psychol* 60:173-196.

Perluigi M, Swomley AM, Butterfield DA (2014) Redox proteomics and the dynamic molecular landscape of the aging brain. *Ageing Res Rev* 13:75-89.

Perry EK, Martin-Ruiz CM, Court JA (2001) Nicotinic receptor subtypes in human brain related to aging and dementia. *Alcohol* 24:63-68.

Pestronk A, Drachman DB, Griffin JW (1980) Effects of aging on nerve sprouting and regeneration. *Exp Neurol* 70:65-82.

Peters A, Moss MB, Sethares C (2000) Effects of aging on myelinated nerve fibers in monkey primary visual cortex. *J Comp Neurol* 419:364-376.

Peters A, Sethares C (2002) Aging and the myelinated fibers in prefrontal cortex and corpus callosum of the monkey. *J Comp Neurol* 442:277-291.

Peters A, Sethares C, Moss MB (1998) The effects of aging on layer 1 in area 46 of prefrontal cortex in the rhesus monkey. *Cereb Cortex N Y N 1991* 8:671-684.

Pfefferbaum A, Lim KO, Zipursky RB, Mathalon DH, Rosenbloom MJ, Lane B, Ha CN, Sullivan EV (1992) Brain Gray and White Matter Volume Loss Accelerates with Aging in Chronic Alcoholics: A Quantitative MRI Study. *Alcohol Clin Exp Res* 16:1078-1089.

Pfefferbaum A, Rosenbloom M, Deshmukh A, Sullivan EV (2001) Sex differences in the effects of alcohol on brain structure. *Am J Psychiatry* 158:188-197.

Pillai JA, McEvoy LK, Hagler DJ Jr, Holland D, Dale AM, Salmon DP, Galasko D, Fennema-Notestine C, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2012) Higher education is not associated with greater cortical thickness in brain areas related to literacy or intelligence in normal aging or mild cognitive impairment. *J Clin Exp Neuropsychol* 34:925-935.

Plassman BL, Welsh-Bohmer KA, Bigler ED, Johnson SC, Anderson CV, Helms MJ, Saunders AM, Breitner JC (1997) Apolipoprotein E epsilon 4 allele and hippocampal volume in twins with normal cognition. *Neurology* 48:985-989.

Poline J-B, Mazoyer BM (1994) Enhanced detection in brain activation maps using a multifiltering approach. *J Cereb Blood Flow Metab* 14:639-642.

Pou KM, Massaro JM, Hoffmann U, Vasan RS, Maurovich-Horvat P, Larson MG, Keaney JF, Meigs JB, Lipinska I, Kathiresan S, Murabito JM, O'Donnell CJ, Benjamin EJ, Fox CS (2007) Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: the Framingham Heart Study. *Circulation* 116:1234-1241.

Prentice AM, Jebb SA (2001) Beyond body mass index. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes* 2:141-

Pryor WA, Stone K (1993) Oxidants in Cigarette Smoke Radicals, Hydrogen Peroxide, Peroxynitrate, and Peroxynitrite. *Ann N Y Acad Sci* 686:12-27.

Quik M (2004) Smoking, nicotine and Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 27:561-568.

Quik M, Kulak JM (2002) Nicotine and nicotinic receptors; relevance to Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 23:581-594.

Quik M, Sum JD, Whiteaker P, McCallum SE, Marks MJ, Musachio J, McIntosh JM, Collins AC, Grady SR (2003) Differential declines in striatal nicotinic receptor subtype function after nigrostriatal damage in mice. *Mol Pharmacol* 63:1169-1179.

Rapp SR, Espeland MA, Shumaker SA, Henderson VW, Brunner RL, Manson JE, Gass MLS, Stefanick ML, Lane DS, Hays J, Johnson KC, Coker LH, Dailey M, Bowen D (2003) Effect of Estrogen Plus Progestin on Global Cognitive Function in Postmenopausal Women - The Women's Health Initiative Memory Study: A Randomized Controlled Trial. *J Am Med Assoc* 289:2663-2672.

Raz N, Gunning-Dixon F, Head D, Rodrigue KM, Williamson A, Acker JD (2004a) Aging, sexual dimorphism, and hemispheric asymmetry of the cerebral cortex: replicability of regional differences in volume. *Neurobiol Aging* 25:377-396.

Raz N, Lindenberger U, Rodrigue KM, Kennedy KM, Head D, Williamson A, Dahle C, Gerstorf D, Acker JD (2005) Regional brain changes in aging healthy adults: general trends, individual differences and modifiers. *Cereb Cortex* 15:1676-1689.

Raz N, Rodrigue KM, Kennedy KM, Acker JD (2004b) Hormone replacement therapy and age-related brain shrinkage: Regional effects. *NeuroReport* 15:2531-2534.

Raz N, Rodrigue KM, Kennedy KM, Acker JD (2007) Vascular health and longitudinal changes in brain and cognition in middle-aged and older adults. *Neuropsychology* 21:149-157.

Reig S, Moreno C, Moreno D, Burdalo M, Janssen J, Parellada M, Zabala A, Desco M, Arango C (2009) Progression of brain volume changes in adolescent-onset psychosis. *Schizophr Bull* 35:233-243.

Reiman EM, Uecker A, Caselli RJ, Lewis S, Bandy D, de Leon MJ, De Santi S, Convit A, Osborne D, Weaver A, Thibodeau SN (1998) Hippocampal volumes in cognitively normal persons at genetic risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 44:288-291.

Reitz C, Tang M-X, Luchsinger J, Mayeux R (2004) Relation of Plasma Lipids to Alzheimer Disease and Vascular Dementia. *Arch Neurol* 61:705-714.

Resnick SM, Goldszal AF, Davatzikos C, Golski S, Kraut MA, Metter EJ, Bryan RN, Zonderman AB (2000) One-year Age Changes in MRI Brain Volumes in Older Adults. *Cereb Cortex* 10:464-472.

Resnick SM, Henderson VW (2002) Hormone therapy and risk of Alzheimer disease: A critical time. *J Am Med Assoc* 288:2170-2172.

Resnick SM, Maki PM, Golski S, Kraut MA, Zonderman AB (1998) Effects of estrogen replacement therapy on PET cerebral blood flow and neuropsychological performance. *Horm Behav* 34:171-182.

Resnick SM, Pham DL, Kraut MA, Zonderman AB, Davatzikos C (2003) Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. *J Neurosci* 23:3295-3301.

Roberts RO, Knopman DS, Przybelski SA, Mielke MM, Kantarci K, Preboske GM, Senjem ML, Pankratz VS, Geda YE, Boeve BF, Ivnik RJ, Rocca WA, Petersen RC, Jack CRJ (2014) Association of type 2 diabetes with brain atrophy and cognitive impairment. *Neurol* 82:1132-1141.

Rocchi A, Pellegrini S, Siciliano G, Murri L (2003) Causative and susceptibility genes for Alzheimer's disease: a review. *Brain Res Bull* 61:1-24.

Roceri M, Molteni R, Fumagalli F, Racagni G, Gennarelli M, Corsini G, Maggio R, Riva M (2001) Stimulatory role of dopamine on fibroblast growth factor-2 expression in rat striatum. *J Neurochem* 76:990-997.

Ruitenbergh A, van Swieten JC, Witteman JCM, Mehta KM, van Duijn CM, Hofman A, Breteler MMB (2002) Alcohol consumption and risk of dementia: the Rotterdam Study. *Lancet* 359:281-286.

Ryan J, Artero S, Carrière I, Scali J, Maller JJ, Meslin C, Ritchie K, Scarabin P-Y, Ancelin M-L (2014) Brain volumes in late life: gender, hormone treatment, and estrogen receptor variants. *Neurobiol Aging* 35:645-654.

Sabbagh MN, Tyas SL, Emery SC, Hansen LA, Alford MF, Reid RT, Tiraboschi P, Thal LJ (2005) Smoking affects the phenotype of Alzheimer disease. *Neurology* 64:1301-1303.

Salat DH, Buckner RL, Snyder AZ, Greve DN, Desikan RSR, Busa E, Morris JC, Dale AM, Fischl B (2004) Thinning of the cerebral cortex in aging. *Cereb Cortex* 14:721-730.

Sasaki H, Abe O, Yamasue H, Fukuda R, Yamada H, Takei K, Suga M, Takao H, Kasai K, Aoki S, Ohtomo K (2009) Structural and diffusional brain abnormality related to relatively low level alcohol consumption. *NeuroImage* 46:505-510.

Scarmeas N, Zarahn E, Anderson KE, Habeck CG, Hilton J, Flynn J, Marder KS, Bell KL, Sackeim HA, Van Heertum RL, Moeller JR, Stern Y (2003) Association of life activities with cerebral blood flow in Alzheimer disease: implications for the cognitive reserve hypothesis. *Arch Neurol* 60:359-365.

Scheltens P, Leys D, Barkhof F, Huglo D, Weinstein HC, Vermersch P, Kuiper M, Steinling M, Wolters EC, Valk J (1992) Atrophy of medial temporal lobes on MRI in "probable" Alzheimer's disease and normal ageing: diagnostic value and neuropsychological correlates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 55:967-972.

Schleicher A, Amunts K, Geyer S, Morosan P, Zilles K (1999) Observer-Independent Method for Microstructural Parcellation of Cerebral Cortex: A Quantitative Approach to Cytoarchitectonics. *NeuroImage* 9:165-177.

Schmidt R, Launer LJ, Nilsson L-G, Pajak A, Sans S, Berger K, Breteler MM, de Ridder M, Dufouil C, Fuhrer R (2004) Magnetic Resonance Imaging of the Brain in Diabetes The Cardiovascular Determinants of Dementia (CASCADE) Study. *Diabetes* 53:687-692.

Schneider JS, Pope-Coleman A, Van Velson M, Menzaghi F, Kenneth Lloyd G (1998) Effects of SIB-1508Y, a novel neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonist, on motor behavior in parkinsonian monkeys. *Mov Disord* 13:637-642.

Schroth G, Remmes U, Schupmann A (1985) Computed tomographic follow-up of brain volume fluctuations before and after alcohol withdrawal treatment. *RöFo Fortschritte Auf Dem Geb Röntgenstrahlen Nukl* 142:363-369.

Seab JP, Jagust WJ, Wong ST, Roos MS, Reed BR, Budinger TF (1988) Quantitative NMR measurements of hippocampal atrophy in Alzheimer's disease. *Magn Reson Med* 8:200-208.

Shumaker SA, Legault C, Kuller L, Rapp SR, Thal L, Lane DS, Fillit H, Stefanick ML, Hendrix SL, Lewis CE, Masaki K, Coker LH (2004) Conjugated equine estrogens and incidence of probable dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women: Women's Health Initiative Memory Study. *J Am Med Assoc* 291:2947-2958.

Shumaker SA, Legault C, Rapp SR, Thal L, Wallace RB, Ockene JK, Hendrix SL, Jones III BN, Assaf AR, Jackson RD, Kotchen JM, Wassertheil-Smoller S, Wactawski-Wende J (2003) Estrogen Plus Progestin and the Incidence of Dementia and Mild Cognitive Impairment in Postmenopausal Women - The Women's Health Initiative Memory Study: A Randomized Controlled Trial. *J Am Med Assoc* 289:2651-2662.

Sidiropoulos C, Jafari-Khouzani K, Soltanian-Zadeh H, Mitsias P, Alexopoulos P, Richter-Schmidinger T, Reichel M, Lewczuk P, Doerfler A, Kornhuber J (2011) Influence of brain-derived neurotrophic factor and apolipoprotein E genetic variants on hemispheric and lateral ventricular volume of young healthy adults. *Acta Neuropsychiatr* 23:132-138.

Sigurdsson S, Aspelund T, Forsberg L, Fredriksson J, Kjartansson O, Oskarsdottir B, Jonsson PV, Eiriksdottir G, Harris TB, Zijdenbos A, van Buchem MA, Launer LJ, Gudnason V (2012) Brain tissue volumes in the general population of the elderly: The AGES-Reykjavik Study. *NeuroImage* 59:3862-3870.

Sliwinski M, Buschke H (1999) Cross-sectional and longitudinal relationships among age, cognition, and processing speed. *Psychol Aging* 14:18-33.

Small SA, Schobel SA, Buxton RB, Witter MP, Barnes CA (2011) A pathophysiological framework of hippocampal dysfunction in ageing and disease. *Nat Rev Neurosci* 12:585-601.

Smith CD, Chebrolu H, Wekstein DR, Schmitt FA, Markesbery WR (2007) Age and gender effects on human brain anatomy: A voxel-based morphometric study in healthy elderly. *Neurobiol Aging* 28:1075-1087.

Soto-Otero R, Méndez-Alvarez E, Hermida-Ameijeiras A, López-Real AM, Labandeira-García JL (2002) Effects of (-)-nicotine and (-)-cotinine on 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress and neurotoxicity: relevance for Parkinson's disease. *Biochem Pharmacol* 64:125-135.

Soumaré A, Elbaz A, Zhu Y, Maillard P, Crivello F, Tavernier B, Dufouil C, Mazoyer B, Tzourio C (2009) White matter lesions volume and motor performances in the elderly. *Ann Neurol* 65:706-715.

Staff RT (2012) Reserve, Brain Changes, and Decline. *Neuroimaging Clin N Am* 22:99-105.

Stephens C (2005) Senescence: even bacteria get old. *Curr Biol* 15:R308-R310.

Stern Y (2009) Cognitive reserve. *Neuropsychologia* 47:2015-2028.

Stewart R, Dufouil C, Godin O, Ritchie K, Maillard P, Delcroix N, Crivello F, Mazoyer B, Tzourio C

(2008) Neuroimaging correlates of subjective memory deficits in a community population. *Neurology* 70:1601-1607.

Storsve AB, Fjell AM, Tamnes CK, Westlye LT, Overbye K, Aasland HW, Walhovd KB (2014) Differential Longitudinal Changes in Cortical Thickness, Surface Area and Volume across the Adult Life Span: Regions of Accelerating and Decelerating Change. *J Neurosci* 34:8488-8498.

Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD (1993) Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:1977-1981.

Sullivan EV, Marsh L, Mathalon DH, Lim KO, Pfefferbaum A (1995) Age-related decline in MRI volumes of temporal lobe gray matter but not hippocampus. *Neurobiol Aging* 16:591-606.

Sullivan EV, Rosenbloom M, Serventi KL, Pfefferbaum A (2004) Effects of age and sex on volumes of the thalamus, pons, and cortex. *Neurobiol Aging* 25:185-192.

Surgeon General (2014) 50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General, 2014. Available at: <http://www.surgeongeneral.gov/library/reports/50-years-of-progress/50-years-of-progress-by-section.html>.

Taki Y, Goto R, Evans A, Zijdenbos A, Neelin P, Lerch J, Sato K, Ono S, Kinomura S, Nakagawa M, Sugiura M, Watanabe J, Kawashima R, Fukuda H (2004) Voxel-based morphometry of human brain with age and cerebrovascular risk factors. *Neurobiol Aging* 25:455-463.

Taki Y, Kinomura S, Sato K, Goto R, Inoue K, Okada K, Ono S, Kawashima R, Fukuda H (2006) Both global gray matter volume and regional gray matter volume negatively correlate with lifetime alcohol intake in non-alcohol-dependent Japanese men: a volumetric analysis and a voxel-based morphometry. *Alcohol Clin Exp Res* 30:1045-1050.

Taki Y, Kinomura S, Sato K, Inoue K, Goto R, Okada K, Uchida S, Kawashima R, Fukuda H (2008) Relationship Between Body Mass Index and Gray Matter Volume in 1,428 Healthy Individuals. *Obesity* 16:119-124.

Tamnes CK, Ostby Y, Fjell AM, Westlye LT, Due-Tønnessen P, Walhovd KB (2010a) Brain Maturation in Adolescence and Young Adulthood: Regional Age-Related Changes in Cortical Thickness and White Matter Volume and Microstructure. *Cereb Cortex* 20:534-548.

Tamnes CK, Østby Y, Walhovd KB, Westlye LT, Due-Tønnessen P, Fjell AM (2010b) Neuroanatomical correlates of executive functions in children and adolescents: A magnetic resonance imaging (MRI) study of cortical thickness. *Neuropsychologia* 48:2496-2508.

Tang M-X, Jacobs D, Stern Y, Marder K, Schofield P, Garland B, Andrews H, Mayeux R (1996) Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet* 348:429-432.

Tang Y, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Gundersen HJ (1997) Age-induced white matter changes in the human brain: a stereological investigation. *Neurobiol Aging* 18:609-615.

Tang Y, Whitman GT, Lopez I, Baloh RW (2001) Brain volume changes on longitudinal magnetic resonance imaging in normal older people. *J Neuroimaging Off J Am Soc Neuroimaging* 11:393-400.

Tanner CM, Goldman SM, Aston DA, Ottman R, Ellenberg J, Mayeux R, Langston JW (2002) Smoking

and Parkinson's disease in twins. *Neurology* 58:581-588.

Tendolkar I, Enajat M, Zwiers MP, van Wingen G, de Leeuw F-E, van Kuilenburg J, Bouwels L, Pop G, Pop-Purceanu M (2012) One-year cholesterol lowering treatment reduces medial temporal lobe atrophy and memory decline in stroke-free elderly with atrial fibrillation: evidence from a parallel group randomized trial. *Int J Geriatr Psychiatry* 27:49-58.

Thompson PM, Hayashi KM, de Zubicaray G, Janke AL, Rose SE, Semple J, Herman D, Hong MS, Dittmer SS, Doddrell DM, Toga AW (2003) Dynamics of gray matter loss in Alzheimer's disease. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 23:994-1005.

Toborek M, Garrido R, Malecki A, Kaiser S, Mattson MP, Hennig B, Young B (2000) Nicotine attenuates arachidonic acid-induced overexpression of nitric oxide synthase in cultured spinal cord neurons. *Exp Neurol* 161:609-620.

Tohgi H, Takahashi S, Kato E, Homma A, Niina R, Sasaki K, Yonezawa H, Sasaki M (1997) Reduced size of right hippocampus in 39- to 80-year-old normal subjects carrying the apolipoprotein E epsilon4 allele. *Neurosci Lett* 236:21-24.

Tolstrup J, Jensen MK, Tjønneland A, Overvad K, Mukamal KJ, Grønbaek M (2006) Prospective study of alcohol drinking patterns and coronary heart disease in women and men. *BMJ* 332:1244-1248.

Torack, R (1983) The early history of senile dementia. In: Reisberg, B., eds. *Alzheimer's Disease*. New York: The Free Press:23-28.

Truelsen T, Thudium D, Grønbaek M, Copenhagen City Heart Study (2002) Amount and type of alcohol and risk of dementia: the Copenhagen City Heart Study. *Neurology* 59:1313-1319.

Tzourio C, Laurent S, Debette S (2014) Is hypertension associated with an accelerated aging of the brain? *Hypertension* 63:894-903.

Tzourio C, Rocca WA, Breteler MM, Baldereschi M, Dartigues JF, Lopez-Pousa S, Manubens-Bertran JM, Alperovitch A (1997) Smoking and Parkinson's disease. An age-dependent risk effect? The EUROPARKINSON Study Group. *Neurology* 49:1267-1272.

Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, Crivello F, Etard O, Delcroix N, Mazoyer B, Joliot M (2002) Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *NeuroImage* 15:273-289.

Umene-Nakano W, Yoshimura R, Kakeda S, Watanabe K, Hayashi K, Nishimura J, Takahashi H, Moriya J, Ide S, Ueda I, Hori H, Ikenouchi-Sugita A, Katsuki A, Atake K, Abe O, Korogi Y, Nakamura J (2014) Abnormal white matter integrity in the corpus callosum among smokers: tract-based spatial statistics. *PloS One* 9:e87890.

Vaidya JG, Paradiso S, Boles Ponto LL, McCormick LM, Robinson RG (2007) Aging, grey matter, and blood flow in the anterior cingulate cortex. *NeuroImage* 37:1346-1353.

Van Dijk EJ (2004) The Association Between Blood Pressure, Hypertension, and Cerebral White Matter Lesions: Cardiovascular Determinants of Dementia Study. *Hypertension* 44:625-630.

Van Haren NEM, Hulshoff Pol HE, Schnack HG, Cahn W, Brans R, Carati I, Rais M, Kahn RS (2008) Progressive brain volume loss in schizophrenia over the course of the illness: evidence of

maturational abnormalities in early adulthood. *Biol Psychiatry* 63:106-113.

Van Velsen EFS, Vernooij MW, Vrooman HA, van der Lugt A, Breteler MMB, Hofman A, Niessen WJ, Ikram MA (2013) Brain cortical thickness in the general elderly population: The Rotterdam Scan Study. *Neurosci Lett* 550:189-194.

Vaughan DW (1992) Effects of advancing age on peripheral nerve regeneration. *J Comp Neurol* 323:219-237.

Vernino S, Amador M, Luetje CW, Patrick J, Dani JA (1992) Calcium modulation and high calcium permeability of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuron* 8:127-134.

Vila M, Jackson-Lewis V, Guégan C, Wu DC, Teismann P, Choi DK, Tieu K, Przedborski S (2001) The role of glial cells in Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* 14:483-489.

Villares JC, Stavale JN (2001) Age-Related Changes in the N-Methyl-d-aspartate Receptor Binding Sites within the Human Basal Ganglia. *Exp Neurol* 171:391-404.

Walhovd KB, Fjell AM, Reinvang I, Lundervold A, Dale AM, Eilertsen DE, Quinn BT, Salat D, Makris N, Fischl B (2005) Effects of age on volumes of cortex, white matter and subcortical structures. *Neurobiol Aging* 26:1261-1270; discussion 1275-1278.

Walhovd KB, Westlye LT, Amlie I, Espeseth T, Reinvang I, Raz N, Agartz I, Salat DH, Greve DN, Fischl B, Dale AM, Fjell AM (2011) Consistent neuroanatomical age-related volume differences across multiple samples. *Neurobiol Aging* 32:916-932.

Wang D, Doddrell DM (2002) MR image-based measurement of rates of change in volumes of brain structures. Part I: method and validation. *Magn Reson Imaging* 20:27-40.

Wang X, Michaelis EK (2010) Selective Neuronal Vulnerability to Oxidative Stress in the Brain. *Front Aging Neurosci* 2:12.

Wannamethee SG, Lowe GDO, Shaper AG, Rumley A, Lennon L, Whincup PH (2005) Associations between cigarette smoking, pipe/cigar smoking, and smoking cessation, and haemostatic and inflammatory markers for cardiovascular disease. *Eur Heart J* 26:1765-1773.

Ward MA, Bendlin BB, McLaren DG, Hess TM, Gallagher CL, Kastman EK, Rowley HA, Asthana S, Carlsson CM, Sager MA, Johnson SC (2010) Low HDL Cholesterol is Associated with Lower Gray Matter Volume in Cognitively Healthy Adults. *Front Aging Neurosci* 2:29.

Ward MA, Carlsson CM, Trivedi MA, Sager MA, Johnson SC (2005) The effect of body mass index on global brain volume in middle-aged adults: a cross sectional study. *BMC Neurol* 5:23.

Wardlaw J (2013) Longitudinal cohort studies in neurodegeneration research - report of the JPND Action Group. <http://www.neurodegenerationresearch.eu/initiatives/jpnd-alignment-actions/longitudinal-cohorts/>.

Westlye LT, Walhovd KB, Dale AM, Bjørnerud A, Due-Tønnessen P, Engvig A, Grydeland H, Tamnes CK, Østby Y, Fjell AM (2010a) Differentiating maturational and aging-related changes of the cerebral cortex by use of thickness and signal intensity. *NeuroImage* 52:172-185.

Westlye LT, Walhovd KB, Dale AM, Bjørnerud A, Due-Tønnessen P, Engvig A, Grydeland H, Tamnes

- CK, Østby Y, Fjell AM (2010b) Life-Span Changes of the Human Brain White Matter: Diffusion Tensor Imaging (DTI) and Volumetry. *Cereb Cortex* 20:2055-2068.
- White T, Su S, Schmidt M, Kao C-Y, Sapiro G (2010) The development of gyrification in childhood and adolescence. *Brain Cogn* 72:36-45.
- Whitworth AB, Kemmler G, Honeder M, Kremser C, Felber S, Hausmann A, Walch T, Wanko C, Weiss EM, Stuppaeck CH, Fleischhacker WW (2005) Longitudinal volumetric MRI study in first- and multiple-episode male schizophrenia patients. *Psychiatry Res* 140:225-237.
- Wilks S (1864) Clinical Notes on Atrophy of the Brain. *Br J Psychiatry* 10:381-392.
- Will JC, Galuska DA, Ford ES, Mokdad A, Calle EE (2001) Cigarette smoking and diabetes mellitus: evidence of a positive association from a large prospective cohort study. *Int J Epidemiol* 30:540-546.
- Wolf H, Hensel A, Arendt T, Kivipelto M, Winblad B, Gertz H-J (2004) Serum lipids and hippocampal volume: The link to Alzheimer's disease? *Ann Neurol* 56:745-749.
- Wynne AM, Henry CJ, Huang Y, Cleland A, Godbout JP (2010) Protracted downregulation of CX3CR1 on microglia of aged mice after lipopolysaccharide challenge. *Brain Behav Immun* 24:1190-1201.
- Xanthakos S, Krishnan KRR, Kim DM, Charles HC (1996) Magnetic resonance imaging of Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 20:597-626.
- Yasuda M, Mori E, Kitagaki H, Yamashita H, Hirono N, Shimada K, Maeda K, Tanaka C (1998) Apolipoprotein E e4 allele and whole brain atrophy in late-onset Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry* 155:779-784.
- Yu R, Zhao L, Lu L (2011) Regional grey and white matter changes in heavy male smokers. *PloS One* 6:e27440.
- Zhang Q, Han D, Wang R, Dong Y, Yang F, Vadlamudi RK, Brann DW (2011a) C terminus of Hsc70-interacting protein (CHIP)-mediated degradation of hippocampal estrogen receptor-alpha and the critical period hypothesis of estrogen neuroprotection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:E617-E624.
- Zhang X, Salmeron BJ, Ross TJ, Geng X, Yang Y, Stein EA (2011b) Factors underlying prefrontal and insula structural alterations in smokers. *NeuroImage* 54:42-48.
- Zhang X, Stein EA, Hong LE (2010) Smoking and Schizophrenia Independently and Additively Reduce White Matter Integrity Between Striatum and Frontal Cortex. *Biol Psychiatry* 68:674-677.
- Zhou F-M, Liang Y, Dani JA (2001) Endogenous nicotinic cholinergic activity regulates dopamine release in the striatum. *Nat Neurosci* 4:1224-1229.

Annexes

Publications réalisées durant ce travail de thèse.

- **Communications affichées**

- Journée de l'Ecole doctorale 2013. Duriez Q, Crivello F, Tzourio-Mazoyer N, Mazoyer B. *"Effect of chronic smoking on brain atrophy: assessment in a cohort of 1,235 healthy elderly"*. Page 197
- Organization of Human Brain Mapping, Seattle 2013. *"Effect of chronic tobacco smoking on brain atrophy: assessment in a cohort of 1,183 healthy elderly"*. Page 198
- Journée de l'Ecole Doctorale 2014. Duriez Q, Crivello F, Tzourio-Mazoyer N, Mazoyer B. *"Effect of chronic cigarette smoking and cardiovascular risk factors on brain atrophy: assessment in a cohort of 1,454 healthy older adults"*. Page 199

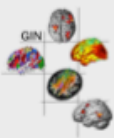
- **Communication orale**

- Organization of Human Brain Mapping, Seattle, June 2013. Duriez Q, Crivello F, Mazoyer B. *"Effect of chronic tobacco smoking on brain atrophy: assessment in a cohort of 1,183 healthy elderly"*.

Cette communication orale a été réalisée après une sélection sur résumé, qui a obtenu un prix : le *"Trainee Abstract Travel Award"*.

- **Article accepté**

- Frontiers In Aging Neuroscience, 2014. Duriez Q, Crivello F, Mazoyer B. *"Sex-related and tissue-specific effects of tobacco smoking on brain atrophy: assessment in a large longitudinal cohort of healthy elderly"*. Page 200



Effect of chronic smoking on brain atrophy: assessment in a cohort of 1,235 healthy elderly

Duriez Q¹, Crivello F¹, Tzourio-Mazoyer N¹, Mazoyer B¹

¹GIN UMR5296 CNRS CEA, Bordeaux Segalen University, Bordeaux, France



Introduction

Compared to the large volume of research on the effects of chronic smoking on cardiovascular diseases and general health in the population (1), investigations dealing with brain morphology consequences of smoking remain scarce. Cigarette smoking has been reported to be associated with grey (GM) and white matter (WM) volume changes (2,3), reduced cognitive abilities (4), and increased risk for neurodegenerative disorders (5). However, most of these studies remain inconclusive due to a cross sectional nature and the use of a small sample size. Here, we take advantage of the Three-Cities cohort (6), a population-based prospective study of the relationship between vascular factors and dementia including subjects with two MRIs 3.6 years apart, for investigating the impact of chronic smoking on brain atrophy.

Methods

Participants:

- a sub-sample of the 3Cities.
- subjects with two MRI sessions : baseline (t_0) and 3.6 years follow-up (t_1).
- Exclusions : History of stroke
- Final study sample of 1,235 participants (mean age was 72.3 years, [65.1 – 82.5]).

Smoking status:

- Qualitative: nonsmoker (nS), former smoker (fS), current smoker (cS).
- Quantitative: pack-year (number of cigarette's pack smoked per day multiplied by the number of years of smoking), available for 1210 subjects.

Smoking status	nS	fS	cS	p
Number of participants	779	385	71	
Age (years) [†]	72.5 (4.0)	72.1 (3.9)	71.8 (3.8)	0.15
Men (%) [‡]	17.2	70.9	62	<0.001
Hypertensive participants (%) [‡]	55.7	62.6	50.7	0.041
Education level (years) [†]	9 (4.2)	10.5 (4.6)	10 (4.6)	<0.001
MMSE (score) [†]	27.8 (1.7)	27.8 (1.7)	28.2 (1.5)	0.17
Apo-e4 carriers (%) [‡]	19.5	26.5	18.3	0.019

Pack-years	0	[0-10]	[10-30]	>30	p
Number of participants	779	170	158	103	
Age (years) [†]	72.5 (4.0)	72 (3.9)	71.8 (3.8)	72.4 (4.0)	0.16
Men (%) [‡]	17.2	56.5	76.6	73.8	<10 ⁻⁴
Hypertensive participants (%) [‡]	55.7	61.8	62.6	56.3	0.25
Education level (years) [†]	9 (4.2)	9.8 (4.6)	10.6 (4.6)	10.3 (4.5)	<10 ⁻⁴
MMSE (score) [†]	27.8 (1.7)	27.7 (1.8)	27.9 (1.4)	27.9 (1.6)	0.51
Apo-e4 carriers (%) [‡]	19.5	23.5	23.4	27.2	0.21

Basic statistics of study sample with respect to smoking status and pack-years groups at the time of entry (t_0) into the study. Values are mean (standard deviation) when applicable. [†] ANOVA, [‡] Pearson's chi-squared test.

MRI processing:

- t_0 and t_1 MRI were obtained on the same 1.5T scanner using a millimetric T1-weighted acquisition.
- MRIs were processed with an optimized protocol (Voxel-Based Morphometry, VBM) (7) that we modified to take into account the structural characteristics of the aged brain (8).
- Global volumes analyzed were: gray matter (GM), white matter (WM), their sum (Total Brain Volume, TBV) and cerebro-spinal fluid (CSF).
- Region of specific interest was the hippocampus (HPC) as a highly recognized imaging marker of brain aging (9). Hippocampus volume was computed with the AAL atlas (8,10). Left and right side were added together.
- Between t_0 and t_1 , individual annual rate of atrophy, expressed in cm^3/year were computed as: $\Delta\text{Vol} = (\text{Vol}_{t_1} - \text{Vol}_{t_0}) / (t_1 - t_0)$.

Statistical analysis:

- Using JMP9.0.0 (© 2010 SAS Institute Inc.).
- ANCOVA was used to assess the effects of smoking status or pack-years and their interaction with sex on the brain volumes or volumes changes ; including Apo-e4 (11) status, hypertension, sex, age and total intracranial volume (TIV, GM for the hippocampus) as confounding variables.
- Correlations : made using an ANCOVA model with continuous pack-years unit and the baseline volumes, adjusted by Apo-e4 status, hypertension, sex, age and total intracranial volume (TIV, GM for the hippocampus)
- Linear trends: post-hoc test of the ANCOVA analysis on the adjusted brain volumes.

References

- Nicita-Mauro V. et al. (2008). 'Smoking, health and ageing'. Immunity and Ageing, 5:10.
- Yu RL. et al. (2011). Regional gray and white matter changes in heavy male smokers'. PLoSOne, vol. 6, no. 11, e23440.
- Durazzo T.C. et al. (2012). Greater regional brain atrophy rate in healthy elderly subjects with a history of cigarette smoking'. Alzheimer's & Dementia, vol. 8, pp. 513-519.
- Chen A. et al. (2004). Effect of smoking on global cognitive function in nondemented elderly'. Neurology, vol. 62, no. 6, pp. 520-524.
- Arnsperger C.J. et al. (2007). Smoking as a Risk Factor for Dementia and Cognitive Decline: A Meta-Analysis of Prospective Studies'. American Journal of Epidemiology, vol. 166, no. 4, pp. 357-378.
- Alperovich A. et al. (2002). Epidemiological studies on aging in France: from the PAQUID study to the Three-City study. CRR Bull 325:665-672.
- Good C.D. et al. (2001). A voxel-based morphometric study of aging in 465 normal adult human brains'. Neuroimage 14:21-36.
- Lemaitre H. et al. (2005). 'No Epsilon-4 gene dose effect on hippocampal atrophy in a large MRI database of healthy elderly subjects'. Neuroimage, vol. 24, pp. 1205-1213.
- Hof P. et al. (2004). 'The aging brain: morphological senescence of cortical circuits'. Trends in Neuroscience 27 (35).
- Tzourio-Mazoyer N. et al. (2002). 'Automated anatomical labeling of activations in SPM using a parcellation of the MNI single subject brain'. Neuroimage, vol. 15, pp. 273-289.
- Crivello F. et al. (2010). Effects of ApoE-epsilon4 allele load and age on the rates of gray matter and hippocampal volumes loss in a longitudinal cohort of 1186 healthy elderly persons'. Neuroimage, vol. 53, pp. 1064-1069.

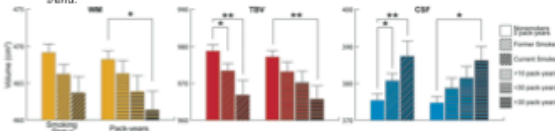
Results

Cross-Sectional Analysis:

Smoking Status	nS	fS	cS	p_A	p_T
GM	509.6 (36.8)	507.2 (28.4)	503.1 (26.2)	0.11	0.054
WM	469.1 (32.1)	466.2 (26.5)	463.7 (18.4)	0.07	0.066
TBV	978.8 (47.4)	973.4 (39.0)	966.7 (34.8)	0.0057	0.0062
CSF	375.4 (47.4)	380.7 (39.0)	387.7 (34.8)	0.0057	0.0062
HPC	6.67 (0.56)	6.66 (0.59)	6.62 (0.51)	0.51	0.25

Pack-years	0	[0-10]	[10-30]	>30	p_A	p_T
GM	509.6 (36.8)	506.9 (27.0)	506.5 (31.3)	504.3 (29.9)	0.42	0.15
WM	469.2 (32.4)	466.3 (23.5)	463.9 (27.4)	461.4 (26.1)	0.0413	0.0062
TBV	977.2 (47.4)	973.1 (34.7)	970.1 (40.3)	965.6 (38.5)	0.0155	0.0036
CSF	374.7 (47.4)	378.7 (34.7)	381.5 (40.3)	386.2 (38.5)	0.0155	0.0036
HPC	6.66 (0.56)	6.66 (0.52)	6.64 (0.63)	6.58 (0.51)	0.49	0.12

Means (standard deviation) of global and hippocampal estimated volumes (cm^3) at baseline. p_A is the significance of the parameter in the ANCOVA analysis, p_T for linear trend.



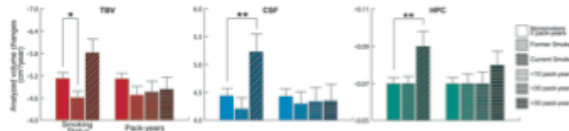
Means and standard error of estimated volumes at baseline. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Student's t-test).

Longitudinal Analysis:

Smoking Status	nS	fS	cS	p_A	p_T
GM	-4 (4.47)	-3.5 (3.73)	-4.24 (3.29)	0.06	0.57
WM	-1.13 (3.07)	-1.11 (2.55)	-1.59 (2.36)	0.27	0.12
TBV	-5.13 (4.19)	-4.61 (3.53)	-5.82 (3.12)	0.014	0.021
CSF	4.44 (3.63)	4.2 (3.14)	5.23 (2.70)	0.0039	0.060
HPC	-0.07 (0.08)	-0.07 (0.08)	-0.09 (0.07)	0.013	0.0019

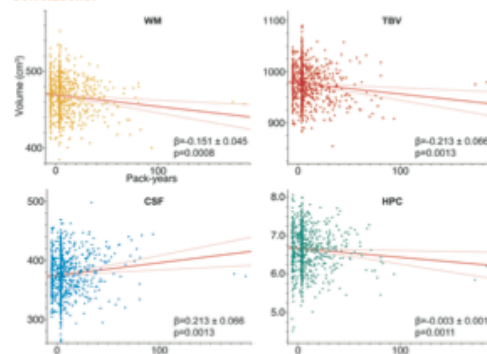
Pack-years	0	[0-10]	[10-30]	>30	p_A	p_T
GM	-3.99 (4.47)	-3.44 (3.38)	-3.76 (3.90)	-3.82 (3.65)	0.31	0.87
WM	-1.13 (3.31)	-1.24 (2.35)	-1.0 (2.77)	-1.01 (2.64)	0.80	0.48
TBV	-5.12 (4.54)	-4.68 (3.13)	-4.76 (3.65)	-4.83 (3.45)	0.95	0.85
CSF	4.43 (3.63)	4.3 (2.74)	4.34 (3.14)	4.35 (3.04)	0.35	0.49
HPC	-0.07 (0.09)	-0.07 (0.07)	-0.07 (0.08)	-0.08 (0.08)	0.20	0.577

Means (standard deviation) of global and hippocampal estimated volumes changes (cm^3/year) during follow-up. p_A is the significance of the parameter in the ANCOVA analysis, p_T for linear trend.



Means and standard error of volumes changes during follow-up. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Student's t-test).

Correlations:



Estimated correlations with the ANCOVA model at baseline. Plain red line = regression line, dotted red lines = 95% confidence interval.

Discussion and Conclusion

The present study provides strong evidence that chronic smoking is a key factor of brain atrophy in healthy elderly, independent of previously identified factors. Effects of smoking apply to both grey and white matters, are cumulative over lifespan, as shown by the correlation between pack-years and atrophy, and become more important during late life as demonstrated by the larger annual rate of atrophy in people still smoking after the age of 65. Effect of smoking on hippocampus rate of atrophy is specific, proving this region vulnerability to environmental factors among elderly subjects.

Effect of chronic tobacco smoking on brain atrophy: assessment in a cohort of 1,183 healthy elderly

Duriez Q, Crivello F, Tzourio-Mazoyer N, Mazoyer B
GIN UMR5296 CNRS CEA, Bordeaux University, France

Introduction

Compared to the large volume of research on the effects of chronic tobacco smoking on cardiovascular diseases and general health in the population¹, investigations dealing with brain morphology consequences of smoking remain scarce. Tobacco smoking has been reported to be associated with grey (GM) and white matter (WM) volume changes^{2,3}, reduced cognitive abilities⁴, and increased risk for neurodegenerative disorders⁵. However, most of these studies remain inconclusive due to their cross-sectional nature for some and the use of small sample sizes for others. Here, we take advantage of the 3-City cohort (3C⁶), a population-based longitudinal study on the relationships between vascular factors and dementia, for measuring both cross-sectional and longitudinal effects of chronic tobacco smoking in healthy elderly.

Methods

Participants:

- Sub-sample of healthy elderly from the 3C-Dijon MRI cohort; history of stroke excluded
- Present study sample size: **1,183** participants (mean age was **72.2** years, [65.2 – 82.3])
- MRI sessions : at study entry time (t_0) and at follow-up after an average of **3.6** years (t_1)
=> same 1.5T scanner for all acquisitions: 1mm³ T1 and 1x1x3 mm³ T2

Smoking status and load at t_0 :

- Status: 3-level ordinal, non smoker (nS), former smoker (fS), or current smoker (cS)
- Load: measured in **Pack.Years**, i.e. number of cigarette packs smoked per day times by number of years of smoking; considered as either continuous or 4-level ordinal (0, ≤10, 10< ≤30, >30)

Basic characteristics of sample of subjects at t_0 :

Smoking status	nS	fS	cS	p
Number of participants	760	358	65	
Sex (% men)	16.7	69.8	60.0	<10 ⁻⁴ †
Age (years)	72.4 (4.0)	72.0 (3.9)	71.8 (3.9)	0.23†
Education level (years)	9.0 (4.2)	10.3 (4.6)	9.6 (4.5)	<10 ⁻⁴ †
Hypertensive participants (%)	72.8	80.2	76.9	0.03†
MMSE (score)	27.8 (1.7)	27.7 (1.6)	28.1 (1.5)	0.27†
Apo-ε4 carriers (%)	19.1	24.9	18.5	0.02†

Smoking load (Pack.Years)	[0-10]	[10-30]	>30	p
Number of participants	164	156	103	
Sex (% men)	55.4	76.9	72.8	<10 ⁻⁴ †
Age (years)	71.8 (3.9)	71.8 (3.8)	72.5 (4.0)	0.33†
Education level (years)	9.9 (4.6)	10.6 (4.7)	10.2 (4.5)	0.48†
Hypertensive participants (%)	77.4	82.7	78.6	0.60†
MMSE (score)	27.7 (1.8)	27.9 (1.4)	27.9 (1.6)	0.34†
Apo-ε4 carriers (%)	22.2	23.4	27.5	0.06†

Values are mean (standard deviation). † ANOVA, ‡ Pearson's chi-squared test.

MRI processing:

- Voxel-Based Morphometry (VBM⁷) customized for accounting structural characteristics of the aged brain⁸. Gray matter (GM), white matter (WM) and cerebro-spinal fluid (CSF) volume (Vol) computed from modulated tissue density maps.
- Target ROI was the hippocampus (HPC), as recognized imaging marker of brain aging⁹. HPC VOI defined with AAL atlas^{10,11}; HPC volume is the sum of Left and Right HPC.
- Total intracranial volume (TIV) = Sum of GM, WM and CSF volumes
- Annualized rate of tissue/HPC volume change: $\Delta Vol = (Vol_{t1} - Vol_{t0}) / (t1 - t0)$ (in cm³/year)

Statistical analysis (JMP9.0.0© 2010 SAS Institute Inc.):

- ANOVA model for effects of smoking (status or load) on tissue/HPC Vol or (Δ Vol)
- X = Mean + Smoking + Sex + Age + TIV (or GMVol for HPC)**
- Post-hoc analysis: Student-t tests and Test for Linear Trends (TLT)
- VBM analysis
- Brain tissue density map = Sum of GM and WM density maps
- SPM5 model: **X = Mean + Smoking + Sex + Age + TIV**

Results

Cross-Sectional Analysis at t_0 :

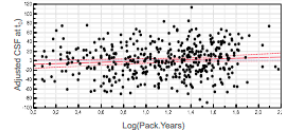
Smoking status	nS	fS	cS	P_{ANOVA}	P_{TLT}
Vol					
GM	508.8	506.4	500.9	0.058	0.022
WM	469.0	465.3	463.3	0.033	0.058
CSF	373.7	379.9	387.3	0.002	0.002
HPC	6.67	6.65	6.57	0.25	0.098

- Values are model-predicted means (in cm³).
- P_{ANOVA} is the significance of the ANOVA "Smoking" effect
- P_{TLT} is the significance of a test for linear trend
- Error bars on charts are model-predicted s.e.m.
- p-values in bar-charts are for post-hoc Student's t-tests

Smoking load (Pack.Years)	Volume 0	[0-10]	[10-30]	>30	P_{ANOVA}	P_{TLT}
GM	508.9	507.0	505.9	502.4	0.15	0.029
WM	469.1	466.4	464.8	462.8	0.045	0.011
CSF	373.5	378.1	380.8	386.3	0.004	0.0006
HPC	6.67	6.65	6.64	6.61	0.65	0.24

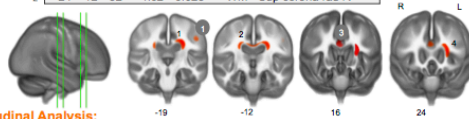
Cross-Sectional Analysis at t_0 (cont'd): correlations between smoking load (log(Pack.Years)) and tissue volumes/density adjusted for Sex, Age and TIV (former and current smokers groups pooled, N=423)

Global volume	B	(s.e.m.)	p
GM	-1.65	(2.39)	0.48
WM	-4.00	(2.14)	0.062
CSF	5.66	(3.06)	0.065
HPC	-0.058	(0.056)	0.29

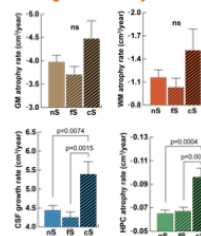


Brain tissue density and log(Pack.years) (VBM correlation analysis, N=1,183)

x	y	z	t	P_{VBM}	Location
1	-24	-19	34	5.11	WM Sup corona rad L
3	16	25	4.90	0.007	GM Cingulate gyrus R
4	-3	31	4.73	0.014	WM Cingulum mid R
5	-26	24	12	5.11	WM Retrolenticular IC L
6	-47	-19	41	4.72	GM Postcentral gyrus L
2	24	-12	32	4.62	WM Sup corona rad R

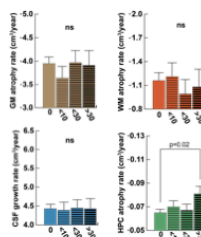


Longitudinal Analysis:



Smoking status	nS	fS	cS	P_{ANOVA}	P_{TLT}
Δ Vol					
GM	-3.96	-3.70	-4.46	0.16	0.23
WM	-1.16	-1.02	-1.51	0.25	0.23
CSF	4.44	4.24	5.38	0.006	0.007
HPC	-0.065	-0.067	-0.096	0.002	0.0004

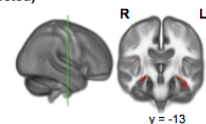
- Values are model-predicted means (in cm³/year).
- P_{ANOVA} is the significance of the ANOVA "Smoking" effect
- P_{TLT} is the significance of a test for linear trend
- Error bars on charts are model-predicted s.e.m.
- p-values in bar-charts are for post-hoc Student's t-tests



Smoking load (Pack.Years)	Volume 0	[0-10]	[10-30]	>30	P_{ANOVA}	P_{TLT}
GM	-3.94	-3.63	-3.96	-3.90	0.71	0.85
WM	-1.16	-1.21	-0.99	-1.07	0.81	0.54
CSF	4.43	4.39	4.46	4.43	0.99	0.93
HPC	-0.065	-0.069	-0.066	-0.081	0.15	0.048

Comparison of local annualized rate of GM atrophy between current smokers (cS) and others (VBM analysis, p<0.001 uncorrected)

x	y	z	t	P_{VBM}	Location
-29	-12	-24	4.37	0.087	GM L Hippocampus
26	-16	-17	3.23	0.091	WM R Hippocampus



Discussion

- The present results provide strong evidence that chronic tobacco smoking is a key factor of brain atrophy in healthy elderly, independent of previously identified factors.
- They remain unchanged when including other confounding variables such as education level, high blood pressure, diabetes, and apoE genotype.
- Effects of tobacco smoking apply to both grey and white matters and are cumulative over lifespan, as shown by the correlation between smoking load and brain atrophy.
- Smoking tobacco after 65 years of age results in larger annualized rates of brain atrophy, independent of lifespan smoking load, particularly at the level of the hippocampus, which proves the vulnerability of this region to environmental factors in elderly subjects.

References

- Nicita-Mauro V. et al. (2008), Immunity and Ageing, 5:10. (2) Yu R. et al. (2011), PlosOne, vol. 6, no. 11, e27440.
- Durazzo T.C. et al. (2012), Alzheimer's & Dementia, vol. 8, pp. 513-519. (4) Ott, A. et al. (2004), Neurology, vol. 62, no. 6, pp. 920-924. (5) Anstey K.J. et al. (2007), American Journal of Epidemiology, vol. 166, no. 4, pp. 367-378. (6) Alperovitch A. et al. (2002), CR Biol 325-665-672. (7) Good C.D. et al. (2001), Neuroimage 14:21-36. (8) Lemaitre H. et al. (2005), Neuroimage, vol. 24, pp. 1205-1213. (9) Hof, P. et al. (2004), Trends in Neuroscience 27 (10). (10) Tzourio-Mazoyer, N. et al. (2002), Neuroimage, vol. 15, pp. 273-289. (11) Crivello F. et al. (2010), Neuroimage, vol. 53, pp. 1064-1069.

Introduction

Compared to the large volume of research on the effects of chronic smoking on cardiovascular diseases and general health in the population (1), investigations dealing with brain morphology consequences of smoking remain scarce. Cigarette smoking has been reported to be associated with gray (GM) and white matter (WM) volume changes (2,3), reduced cognitive abilities (4), and increased risk for neurodegenerative disorders (5).

Due to discrepancies in confounding variables between men and women in our sample, statistical analysis was segregated by sex. Few studies compared the effect of cigarette smoking between men and women, but in our knowledge, this study is the first one including the effects of cardiovascular risk factors on brain volumetry among a large sample of healthy older adults. Here we take advantage of the Three-City cohort to investigate their impact on brain atrophy.

Methods

- Participants:**
 - MRI sub-sample of the **Three-City cohort** (6).
 - Subjects with one or two MRI sessions: baseline (t₀) and 3.6 years follow-up (t₁).
 - Exclusions: history of stroke, missing data, poor MRI quality (motion blur, ...).
 - Final study cross-sectional sample of **1,454** participants (mean age was **72.6** years, [65.2 - 82.5] at t₀) and longitudinal sample of **1,111** participants (mean age **72.2** years, [65.2 - 82.3] at t₀).
- MRI processing and dependent variables:**
 - t₁ and t₀ MRI were obtained on the same **1.5T** scanner using a millimetric T1-weighted acquisition.
 - MRIs were processed with an optimized protocol (Voxel-Based Morphometry, **VBM**) (7) that we modified to take into account the structural characteristics of the aged brain (8).
 - Global volumes analyzed were: gray matter (**GM**) and white matter (**WM**).
 - We analyzed the **hippocampus (HPC)**, region of specific interest as a highly recognized imaging marker of brain aging (9). **Bilateral hippocampus volume** was computed with the AAL atlas (8,10).
 - Between t₀ and t₁, individual annual rates of atrophy, expressed in cm³/year were computed as: $\Delta Vol = (Vol_{t_1} - Vol_{t_0}) / (t_1 - t_0)$.
- Independent variables:**
 - Cigarette consumption in packyear (n of packs smoked per day times number of years of active smoking)
 - Cardiovascular risk factors (listed below) and their interaction with packyear.
 - Apolipoprotein epsilon4 allele charge (11)

Cross-sectional sample	Men (n = 533)	Women (n = 921)	p-value
Age [†]	72.34 ± 4.00	72.70 ± 4.06	0.097
Apo-ε4 allele (0/1/2) [‡]	75.97 / 22.70 / 1.31	81.22 / 18.02 / 0.76	0.0503
Alcohol (Alc) (g/day) [†]	20.71 ± 16.16	7.37 ± 8.27	<0.0001
Body Mass Index (BMI) [†]	25.90 ± 3.25	24.93 ± 3.89	<0.0001
CES-D (Depression Scale) [†]	7.64 ± 6.84	11.71 ± 9.37	<0.0001
Cholesterol (Chol) (mmol/L) [†]	5.58 ± 0.89	5.91 ± 0.94	<0.0001
Educational Level (Educ) [†]	9.33 ± 7.80	8.24 ± 4.36	<0.0001
Glycaemia (Glyc) (mmol/L) [†]	5.25 ± 1.17	4.97 ± 1.14	<0.0001
MMSE test score [†]	27.76 ± 1.65	27.67 ± 1.81	0.36
Packyear (Pkyr) [†]	16.11 ± 19.28	3.19 ± 11.91	<0.0001
Systolic Blood Pressure (SBP) (mmHg) [†]	155.73 ± 21.72	144.77 ± 22.16	<0.0001
Diastolic BP (mmHg) [†]	87.95 ± 11.26	83.30 ± 11.38	<0.0001
Total Intracranial Volume (TIV) (cm ³) [†]	1461.81 ± 116.33	1297.38 ± 99.73	<0.0001
GM (cm ³) [†]	538.58 ± 46.39	489.49 ± 42.07	<0.0001
WM (cm ³) [†]	504.88 ± 48.19	447.34 ± 42.66	<0.0001
HPC (cm ³) [†]	7.01 ± 0.84	6.40 ± 0.73	<0.0001
Longitudinal sample	Men (n = 390)	Women (n = 721)	p-value
ΔGM (cm ³ /year) [†]	-3.63 ± 3.27	-4.48 ± 2.98	<0.0001
ΔWM (cm ³ /year) [†]	-1.37 ± 2.26	-0.85 ± 2.20	0.00022
ΔHPC (cm ³ /year) [†]	-0.066 ± 0.069	-0.071 ± 0.062	0.17

Table 1 - Basic statistics of study sample by gender at the time of entry (t0) into the study. Values are mean ± standard deviation when applicable. Longitudinal sample differences are similar: all p-values under 0.0001 but for age (0.27), Apo-ε4 (0.088). † ANOVA, ‡ Pearson's chi-squared test.

- Statistical analyses:**
 - Using JMP9.0.0 (  2010 SAS Institute Inc.).
 - Stratified by gender**
 - All variables were **standardized** to allow comparison of effects.
 - ANCOVA** including an intercept (Int) was used to assess the effects of packyear, the cardiovascular risk factors and their interaction on the brain volumes or volumes changes; independent variables were also used as confounding variables, including TIV (or GM for the HPC analyses).
 - Interaction** terms between packyear and the others variables (but Apo-ε4) were tested in all analyses and included if significant. Apo-ε4 was excluded because there was no homozygous and currently smoking subjects.

References

1) Nicita-Mauro V. et al. (2008). 'Smoking, health and ageing', Immunity and Ageing, 5:10.

2) Yu R. et al. (2011). 'Regional gray and white matter changes in heavy male smokers', PlosOne, vol. 6, no. 11, e27440.

3) Durazzo T.C. et al. (2012). 'Greater regional brain atrophy rate in healthy elderly subjects with a history of cigarette smoking', Alzheimer's & Dementia, vol. 8, pp. 513-519.

4) Ott, A. et al. (2004). 'Effect of smoking on global cognitive function in nondemented elderly', Neurology, vol. 62, no. 6, pp. 920-924.

5) Anstey K.J. et al. (2007). 'Smoking as a Risk Factor for Dementia and Cognitive Decline: A Meta-Analysis of Prospective Studies', American Journal of Epidemiology, vol. 166, no. 4, pp.367-378.

6) Alperovitch A. et al (2002.), Epidemiological studies on aging in France: from the PAQUID study to the Three-City study CR Biol 325-665-672

7) Good C.D. et al. (2001) 'A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains.' Neuroimage 14:21-36

8) Lemaitre H. et al. (2005). 'No Epsilon-4 gene dose effect on hippocampal atrophy in a large MRI database of healthy elderly subjects', Neuroimage, vol. 24, pp. 1205-1213.

9) Hof, P. et al. (2004). 'The aging brain: morphomolecular senescence of cortical circuits'. Trends in Neuroscience 27 (10)

10)Tzourio-Mazoyer N. et al. (2002). 'Automated anatomical labeling of activations in SPM using a parcellation of the MNI single subject brain'. Neuroimage, vol. 15, pp. 273-289.

11)Crivello F et al. (2010). Effects of ApoE-ε4 allele load and age on the rates of grey matter and hippocampal volumes loss in a longitudinal cohort of 1186 healthy elderly persons, Neuroimage, vol 53, pp. 1064-1069.

12)Debetete S. et al. (2014) Abdominal obesity and lower gray matter volume: a Mendelian randomization study', Neurobiology of Aging, vol. 35, pp. 378-386.

13)Debetete S. et al. (2011) 'Midlife vascular risk factors exposure accelerates structural brain aging and cognitive decline', Neurology, vol. 77, pp. 461-468.

Results

- Cross-Sectional Analyses:**
 - Smoking was associated with lower volumes of GM in both sex and of WM in women only.
 - HPC was not impacted by smoking.
 - Segregation by sex reveals distinct pattern of effects of risk factors in men and women during lifespan.

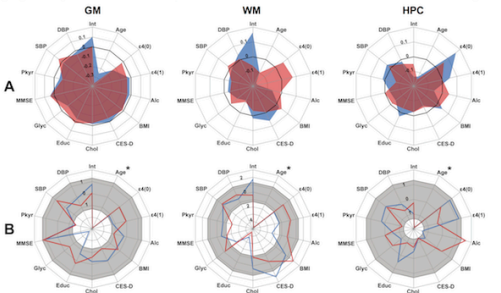


Figure 1 - Cross-sectional analyses results. Women in red and men in blue. A. Standardized estimates radar plots. Black line representing the zero, increase in volume outside, atrophy inside. For Apo-ε4, $\beta_{Apo-ε4} = -(\beta_{Apo-ε4} + \beta_{Apo-ε4})$. B. Oriented p-values radar plots with logarithmic scale. P-values were transformed for the logarithmic scale and given the orientation of the associated estimate (toward the outside for positive estimate and toward the inside for negative estimate). Grey donut delimit the "non-significance zone" (between -1.30 and 1.30 for the logarithmic scale). *Age p-values were limited for representation sake. Real p-values in men are $p_{DBP} = 7.09 \times 10^{-3}$, $p_{SBP} = 5.81 \times 10^{-3}$, $p_{Apo-ε4} = 3.91 \times 10^{-3}$, and in women: $p_{DBP} = 8.53 \times 10^{-3}$, $p_{SBP} = 1.98 \times 10^{-3}$, $p_{Apo-ε4} = 5.86 \times 10^{-3}$.

- Longitudinal Analyses:**
 - Smoking was only associated with higher rate of HPC atrophy in women only. However, homozygous Apo-ε4 carriers in men showed higher hippocampal rate of atrophy. There was no association with WM.
 - GM and HPC atrophy during the follow-up was also differently influenced by independent variables in men and women.

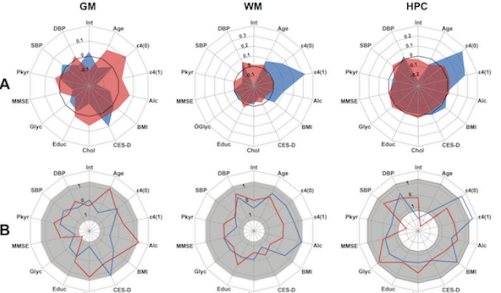


Figure 2 - Longitudinal analyses results. Women in red and men in blue. A. Standardized estimates radar plots. Black line representing the zero, increase in volume outside, atrophy inside. For Apo-ε4, $\beta_{Apo-ε4} = -(\beta_{Apo-ε4} + \beta_{Apo-ε4})$. B. Oriented p-values radar plots with logarithmic scale. P-values were transformed for the logarithmic scale and given the orientation of the associated estimate (toward the outside for positive estimate and toward the inside for negative estimate). Grey donut delimit the "non-significance zone" (between -1.30 and 1.30 for the logarithmic scale).

- Interactions:**

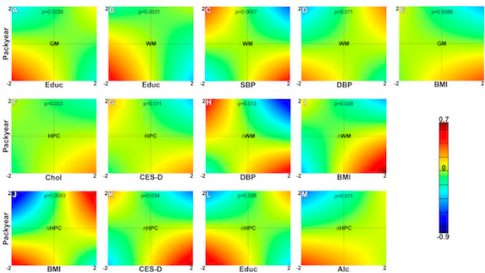


Figure 3 - Estimated interaction between pack-year and the cardiovascular risk factors. Color map corresponding to the estimates of the interaction on specified volume. A-D = cross-sectional men analysis, E-G = cross-sectional women analysis, H-L = longitudinal men analysis and M = longitudinal women analysis.

Discussion and Conclusion

The present study provides strong evidence that chronic smoking is a key factor of brain atrophy in healthy older adults, independent of previously identified factors such as Apo-ε4 allele charge (11), BMI (12), hypertension and diabetes (13). Effects of smoking apply to both gray and white matters in women but only on gray matter in men. Effect of smoking on hippocampus rate of atrophy is specific, proving this region vulnerability to environmental factors among elderly subjects. Both genders display different pattern of atrophy in regard of cardiovascular risk factors, confirming the necessity of stratification in this study.

Packyear is interacting with all of them but glycaemia and MMSE. This might give further details in the mechanisms through which cigarette smoking alters brain anatomy and necessitate additional analysis. The study lacks bibliographic comparison, in our knowledge it is the first one on the modulation of brain atrophy by smoking and cardiovascular risk factors, segregated by gender among healthy older adults.



Sex-related and tissue-specific effects of tobacco smoking on brain atrophy: assessment in a large longitudinal cohort of healthy elderly

Quentin Duriez^{1,2,3}, Fabrice Crivello^{1,2,3} and Bernard Mazoyer^{1,2,3*}

¹ Life Sciences, University of Bordeaux, Neurofunctional Imaging Group (GIN) UMR5296, Bordeaux, France

² Centre National de la Recherche Scientifique, Neurofunctional Imaging Group (GIN) UMR5296, Bordeaux, France

³ Commissariat à l'Energie Atomique, Neurofunctional Imaging Group (GIN) UMR5296, Bordeaux, France

Edited by:

Isidro Ferrer, University of
Barcelona, Spain

Reviewed by:

Carme Junque, University of
Barcelona, Spain

Carles Soriano-Mas, Bellvitge
Biomedical Research
Institute-IDIBELL, Spain

*Correspondence:

Bernard Mazoyer, Life Sciences,
University of Bordeaux, UMR5296,
PAC Carrière, Case 71, 146 Rue Leo
Saignat, 33076 Bordeaux, France
e-mail: bernard.mazoyer@
u-bordeaux.fr

We investigated the cross-sectional and longitudinal effects of tobacco smoking on brain atrophy in a large cohort of healthy elderly participants (65–80 years). MRI was used for measuring whole brain (WB), gray matter (GM), white matter (WM), and hippocampus (HIP) volumes at study entry time (baseline, $N = 1451$), and the annualized rates of variation of these volumes using a 4-year follow-up MRI in a subpart of the cohort ($N = 1111$). Effects of smoking status (never, former, or current smoker) at study entry and of lifetime tobacco consumption on these brain phenotypes were studied using sex-stratified AN(C)OVAs, including other health parameters as covariates. At baseline, male current smokers had lower GM, while female current smokers had lower WM. In addition, female former smokers exhibited reduced baseline HIP, the reduction being correlated with lifetime tobacco consumption. Longitudinal analyses demonstrated that current smokers, whether men or women, had larger annualized rates of HIP atrophy, as compared to either non or former smokers, independent of their lifetime consumption of tobacco. There was no effect of smoking on the annualized rate of WM loss. In all cases, measured sizes of these tobacco-smoking effects were of the same order of magnitude than those of age, and larger than effect sizes of any other covariate. These results demonstrate that tobacco smoking is a major factor of brain aging, with sex- and tissue specific effects, notably on the HIP annualized rate of atrophy after the age of 65.

Keywords: tobacco, aging, sex, brain atrophy, gray matter, white matter, hippocampus, MRI

INTRODUCTION

With the aging of the general population and the associated economical and social burden of age-related disorders, it has become critical to characterize normal brain aging and to identify and quantify factors that may accelerate brain aging and/or lead to age-related neurological disorders. Brain tissue volumes, whether global or regional (notably hippocampus), are endophenotypes easily derivable from magnetic resonance imaging (MRI) that have been shown to be sensitive to aging and good predictors of dementia and cognitive decline in elderly individuals (Miller et al., 1980; Braak and Braak, 1998; Good et al., 2001; Den Heijer et al., 2002; Fjell and Walhovd, 2010). Using such brain phenotypes, many studies have investigated factors of morphological brain aging such as sex (Coffey et al., 1998; Resnick et al., 2003; Lemaître et al., 2005b; Abe et al., 2010; Hua et al., 2010; O'Dwyer et al., 2012; Ryan et al., 2014), genetics (Lemaître et al., 2005a; Crivello et al., 2010; Boada et al., 2012; Stein et al., 2012; Ryan et al., 2014) or lifestyle (Coffey et al., 1999; Sabia et al., 2014; Shpankaya et al., 2014; Umene-Nakano et al., 2014). Others have demonstrated the effect on brain atrophy of cardiovascular risk factors such as obesity (Driscoll et al., 2012; Xu et al., 2013; Debette et al., 2014, 2011; Franke et al., 2014), hypertension (Debette et al., 2011; Maillard

et al., 2012; Peters, 2012; Beauchet et al., 2013; Franke et al., 2014), hypercholesterolemia (Tendolkar et al., 2012; Van Velsen et al., 2013; Franke et al., 2014), diabetes (Biessels et al., 2005; Debette et al., 2011; Cherbuin et al., 2012; Franke et al., 2014) and tobacco smoking (Enzinger et al., 2005; Ikram et al., 2008; Debette et al., 2011; Durazzo et al., 2012; Hoogendam et al., 2012).

Regarding the last factor, its effects on brain atrophy has recently received increased attention (Almeida et al., 2011; Durazzo et al., 2012, 2013; Pan et al., 2013; Fritz et al., 2014) because the consensus has been growing over the past years on the fact that it should be considered as a brain aging enhancer (Bernhard et al., 2007; Debette et al., 2011) and a risk factor for cognitive decline (Ott et al., 2004; Anstey et al., 2007; Starr et al., 2007; Sabia, 2012) and dementia (Ott et al., 1998; Anstey et al., 2007; Rusanen et al., 2011). Recent MRI studies have so looked for associations between tobacco consumption and either brain tissue global volumes (Enzinger et al., 2005; Ikram et al., 2008; Debette et al., 2011; Durazzo et al., 2012; Hoogendam et al., 2012), tissue local density (Brody et al., 2004; Gallinat et al., 2006; Almeida et al., 2008; Liao et al., 2010; Yu et al., 2011; Zhang et al., 2011; Morales et al., 2012), or white matter integrity (Paul et al., 2008; Debette et al., 2011; Umene-Nakano et al., 2014).

However, a solid consensus has not yet been reached for any of these morphological outcomes. Regarding global brain volumes, for instance, some authors have reported enhanced reduction (or accelerated rate of loss) of whole brain volume (WB, Ikram et al., 2008; Debette et al., 2011; Hoogendam et al., 2012), while others described no reduction or no accelerated rate of loss (Enzinger et al., 2005; Durazzo et al., 2012). As for gray matter (GM) regional densities, a meta-analysis of seven studies (Pan et al., 2013) found that a reduction in the anterior cingulate cortex of smokers was the only robust finding. Similar discrepancy in results were observed regarding white matter (WM) integrity, some showing reduced WM integrity in smokers compared to non-smokers (Debette et al., 2011; Umene-Nakano et al., 2014) while another study showed increased WM integrity in smokers (Paul et al., 2008).

Such discrepancies are likely to come from multiple sources, starting with small sample sizes, especially of current smokers, when dealing with cohorts of elderly, leading some studies to pool current and former smokers in their analyses while others did not. It must also be stressed that voxel-based studies are intrinsically subject to reduced statistical power given the very large number of brain phenotypes simultaneously analyzed. Another potential source of discrepancy is the choice of whole brain volume as a phenotype of interest. Indeed, gray and white matters have different dynamics during development, maturation and aging (Miller et al., 1980; Smith et al., 2007; Abe et al., 2010). Moreover, those two tissues have a highly different cellular and vascular composition, leaving the possibility of differential susceptibility to tobacco smoking, and calling for including gray and white volumes as additional phenotypes of interest. Finally, another factor that could lead to discrepancies is sex. There is evidence of sexual dimorphism in brain aging (Coffey et al., 1998; Good et al., 2001; Thambisetty et al., 2010), but few studies have searched for sex-related effects on brain atrophy of cardiovascular risk factors, and particularly of tobacco smoking. In addition, it should be noted that GM and WM have different relative volumes in men and women (Allen et al., 2003; Lemaitre et al., 2005b; Leonard et al., 2008), which could generate discrepancies between studies having samples of different sex ratio and using WB as a phenotype of interest (see above). More generally, sex is a potential confounding factor in studies on factors of brain aging because men and women differed on many lifestyle and health parameters potentially affecting brain atrophy, and notably on tobacco smoking parameters with a larger frequency and lifetime consumption in men.

The goal of the present study was thus to take advantage of a large longitudinal community cohort study, the Three-City Study (3C Study; Alperovitch et al., 2002), for quantifying tissue- and sex-specific effects of tobacco smoking on brain atrophy and to compare them to effects of other known factors of brain aging. An additional feature of this study is that, thanks to the longitudinal study design, we were able to estimate the tobacco smoking effects on brain atrophy both in the cross-sectional study sample and in the subsample that underwent a follow-up examination 4 years after their entry in the study. The combination of the cross-sectional and longitudinal approaches, implemented only in a few previous studies on the same topic (Enzinger et al., 2005;

Durazzo et al., 2012) gave the opportunity to look at complementary aspects of tobacco smoking effects on brain atrophy, namely lifetime cumulative effects and effects on the brain of elderly individuals.

METHODS

POPULATION AND STUDY DESIGN

The 3C Study is a prospective cohort study, whose design has been described in detail elsewhere (Alperovitch et al., 2002). The study took place in three French cities; here we use the subsample from the city of Dijon (3C-D). Briefly, 4931 non-institutionalized persons aged 65 years and over were recruited from the electoral rolls of the city of Dijon between March 1999 and March 2001. The Ethic committee of the Kremlin-Bicêtre hospital approved the 3C protocol, and all participants were asked to sign an informed consent. 3C-Dijon participants enrolled between June 1999 and September 2000, aged less than 80 years, those who were able to come to the examination center ($n = 2763$) being invited to have a brain MRI. Although 2285 persons agreed to participate, because of financial limitations, 1924 participants were scanned (3C-D-MRI subsample). As compared to participants who were not scanned, the 3C-D-MRI sample was younger (72.5 vs. 73.4 years old, $p < 0.001$), and had a lower proportion of women (62.2% vs. 71.0%, $p < 0.001$), higher education (high school graduates: 23.5% vs. 17.8%, $p < 0.001$), and better health status (62.3% vs. 56.4%, $p < 0.001$). Approximately 4 years after inclusion, 1402 of those who were scanned agreed to have a follow-up MRI (follow-up rate = 77.8%). A number of participants were later excluded due to either (1) poor technical quality of their MRI, (2) failure in MRI processing, (3) missing data (demographic, biological, cognitive, genotyping), or (4) previous history of stroke or a diagnosis of dementia according to the DSM-IV criteria (American Psychiatric Association, 1994). As a result, the sample of the present study eventually included 1451 participants at entry (920 women, 531 men) and 1111 participants at follow-up (721 women, 390 men).

MRI ACQUISITION AND PROCESSING

MRI examinations at study entry (t_E) and 4 years follow-up (t_F) were acquired using the same scanner (1.5 T Siemens) and a standardized acquisition imaging protocol. High-resolution T1-weighted brain volume was acquired using a 3D inversion recovery fast spoiled-gradient echo sequence (3D SPGR; $TR = 9.7$ ms; $TE = 4$ ms; $TI = 600$ ms; coronal acquisition). The axially reoriented 3D T1 volume matrix size was $256 \times 192 \times 256$ mm³, with a voxel size of $1.0 \times 0.98 \times 0.98$ mm³. T2- and proton density (PD)-weighted brain volumes were acquired using a 2D fast spin echo sequence with two echo times ($TE1 = 16$ ms, $TE2 = 98$ ms, $TR = 4400$ ms). T2 and PD acquisitions consisted of 35 axial slices with 3.5 mm thickness (0.5 mm gap), 256×256 mm² matrix size and pixel size of 0.98×0.98 mm².

T1- and T2-weighted images of each participant were processed with SPM99, an optimized Voxel-Based Morphometry (VBM) protocol (Ashburner and Friston, 2000) that we customized in order to take into account the structural characteristics of the aged brain (Lemaitre et al., 2005b). Using this VBM procedure, brain tissue probability maps were obtained for each

individual and each acquisition time. We applied a modulation step to each individual's tissue probability density maps to preserve the participant original tissue quantity after being transferred to the reference space used (Good et al., 2001). At t_E and t_F , both gray matter (GM) white matter (WM) global volumes were estimated as the integral of voxel intensities over their modulated probability density images. At each time, whole brain (WB) volume was computed as the sum of GM and WM volumes.

For the purpose of the present study, the hippocampus was considered as a region of specific interest (ROI) given that it is a highly recognized imaging marker of brain aging (Hof and Morrison, 2004). Similar to previous studies (Lemaître et al., 2005b; Crivello et al., 2010) left and right hippocampus volumes were automatically estimated by integrating the voxel intensities of the modulated GM partition images within hippocampus limits as defined by the AAL atlas (Tzourio-Mazoyer et al., 2002). Statistical analysis was performed on the total hippocampus volume (HIP), i.e., on sum of the left and right volumes.

For the longitudinal analysis, we computed for each individual and each tissue (WB, GM, WM) and ROI (HIP), an annual rate of volume change as: $\Delta V = (V_F - V_E)/(t_F - t_E)$, V_E and V_F being the estimated volumes at entry and 4 year follow-up, respectively.

In this study, we did not correct the WM volume for the presence of WM lesions (WML). Rather, WML were evaluated at entry for each participant using a multi-spectral (T1, T2, PD) MRI analysis as previously reported (Maillard et al., 2008) and used, as previously done by others (Enzinger et al., 2005; Ikram et al., 2008; Durazzo et al., 2012; Hoogendam et al., 2012), as a covariate in the statistical analysis of tobacco effect on brain tissue.

TOBACCO SMOKING VARIABLES AND OTHER PERSONAL HEALTH-RELATED COVARIATES

Participant status regarding tobacco consumption was categorized as never, former and current smoker. Lifetime tobacco consumption was estimated in number of "pack-years," i.e., the average number of packs of cigarettes smoked per day times the number of years of smoking.

Consumption of alcohol was measured used in g/day of pure alcohol. Systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP, respectively), fasting blood glucose and total cholesterol were measured in each individual. Hypertension was defined by systolic blood pressure (SBP) ≥ 140 mm Hg, or diastolic blood pressure (DBP) ≥ 90 mm Hg, or use of antihypertensive drugs. Diabetes mellitus was defined as fasting blood glucose ≥ 7 mmol/L or use of anti-diabetic drugs. Hypercholesterolemia was defined as fasting total cholesterol ≥ 6.2 mmol/L or use of lipid-lowering drugs. Body mass index (BMI) was calculated as the ratio of weight (kg) to the square of height (m^2).

Educational level was defined as the number of years of scholarship since primary school. Participant's global cognitive status was evaluated using the Mini Mental State Examination (Folstein et al., 1975). Depression symptoms were evaluated using the Center for Epidemiologic Studies-Depression scale (CES-D). Genotyping of the ApoE epsilon allele polymorphism was performed as previously described (Crivello et al., 2010), participants

being classified as either non-carrier or carrier of an epsilon-4 allele.

STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analysis was conducted separately in men and women in order to avoid the confounding effects of sex on brain atrophy and smoking. Effects of tobacco smoking status on brain tissue volumes (WB, GM, WM, and HIP) at entry in the study or their annualized variation were studied using general linear modeling. The cross-sectional sample was used for the analysis at study entry time and the longitudinal sample for the analysis of annualized tissue volume variations. Age, educational level, MMSE score, BMI, CES-D score, SBP, DBP, fasting blood glucose, cholesterol, alcohol consumption, WML, and Apo- ϵ_4 charge were included as covariates. Total intracranial volume (TIV) was used as a covariate for WB, GM, and WM volumes analyses, whereas GM tissue volume was used as a covariate for HIP volume analysis in order to uncover effects that might be specific to this brain area as compared to the rest of GM. Whenever a significant effect of smoking status on a volume or annualized change was found, we searched for a possible "dose-effect" through linear modeling of this tissue volume/annualized change with pack-years as the independent variable, and including the same set of covariates. For the sake of comparison with previous studies, we performed an additional analysis on the entire sample including a sex main effect and a sex by smoking interaction effect. In all statistical analyses, variables (both dependent or independent) were standardized allowing a comparison of the size of effects of the different independent variables. All statistical analyses were performed using the JMP Pro software (SAS Institute Inc., Cary, USA).

RESULTS

SAMPLE CHARACTERISTICS

Table 1 gives the bio-clinical characteristics of the cross-sectional and longitudinal study samples separately for men and women. At both entry and follow-up time, men and women differed on all variables except age and MMSE. Men were better educated, had higher fasting blood glucose, blood pressure, BMI, tobacco smoking and alcohol intake, and lower CES-D score and cholesterol level than women. Note, in particular, the marked difference in the frequencies of never smokers in men (30.5%) and women (82.4%).

Participants of the cross-sectional sample who did not have a follow-up differed from those of the longitudinal sample on several parameters: they were older at their entry in the study (73.2 vs. 72.0 years, $p = 0.004$ for men and 74.1 vs. 72.3 years, $p < 10^{-4}$ for women), had a lower education level (6.6 vs. 10.3 years in men and 5.6 vs. 8.9 years in women, $p < 10^{-4}$ in both sexes), larger CES-D scores (8.9 vs. 7.1, $p = 0.009$ in men and 13.0 vs. 11.3, $p = 0.026$ in women) and lower MMSE (27.5 vs. 27.8, $p = 0.042$ in men and 27.3 vs. 27.7, $p = 0.006$ in women). Moreover in women they also differed for BMI (25.6 vs. 24.7 kg/m^2 , $p = 0.005$) and glycaemia (5.1 vs. 4.9 mmol/L, $p = 0.039$).

Table 2 describes the smoking history parameters of male and female former and current smokers, in the cross-sectional and longitudinal samples. Besides the above-mentioned difference in smoking status frequencies, men and women also differed

Table 1 | Bio-clinical characteristics of the women and men subgroups of participants at the time of entry in the cross-sectional and longitudinal studies.

	Cross-sectional study sample			Longitudinal study sample		
	Men	Women	<i>p</i>	Men	Women	<i>p</i>
Sample size	531	920		390	721	
Age (years)	72.3 (4.00)	72.7 (4.06)	0.097	72.0 (3.93)	72.3 (3.93)	0.27
Education (years)	9.3 (4.8)	8.2 (4.4)	<10 ⁻⁴	10.3 (4.6)	8.9 (4.2)	<10 ⁻⁴
Smoking status			<10 ⁻⁴			<10 ⁻⁴
non	162 (30.5%)	758 (82.4%)		118 (30.3%)	596 (82.7%)	
former	320 (60.3%)	128 (13.9%)		235 (60.2%)	99 (13.7%)	
current	49 (9.2%)	34 (3.7%)		37 (9.5%)	26 (3.6%)	
Alcohol intake (g/day)	20.7 (16.1)	737 (8.27)	<10 ⁻⁴	21.0 (16.5)	728 (8.23)	<10 ⁻⁴
BMI (kg.m ⁻²)	25.9 (3.25)	24.9 (3.90)	<10 ⁻⁴	25.8 (3.08)	24.7 (3.72)	<10 ⁻⁴
Fasting blood glucose (mmol/L)	5.26 (1.17)	4.97 (1.14)	<10 ⁻⁴	5.29 (1.26)	4.93 (0.95)	<10 ⁻⁴
Diabetes	10.2%	6.1%	0.014	11.0%	5.8%	0.008
SBP (mm Hg)	155.8 (21.7)	144.8 (22.2)	<10 ⁻⁴	156.2 (21.4)	144.3 (22.0)	<10 ⁻⁴
DBP (mm Hg)	87.9 (11.3)	83.3 (11.4)	<10 ⁻⁴	88.3 (11.1)	83.3 (11.0)	<10 ⁻⁴
Hypertension	83.2%	72.5%	<10 ⁻⁴	83.0%	70.9%	<10 ⁻⁴
Fasting blood cholesterol (mmol/L)	5.58 (0.90)	5.91 (0.94)	<10 ⁻⁴	5.57 (0.90)	5.89 (0.93)	<10 ⁻⁴
Hypercholesterolemia	33.7%	40.9%	0.006	35.9%	41.2%	0.085
ApoE-ε ₄ genotype			0.05			0.088
non carrier	403 (76.0%)	747 (81.2%)		297 (76.2%)	587 (81.4%)	
carrier	128 (24.1%)	173 (18.8%)		93 (23.8%)	134 (18.6%)	
CES-D	7.63 (6.9)	11.7 (9.4)	<10 ⁻⁴	7.2 (6.4)	11.4 (9.2)	<10 ⁻⁴
MMSE	27.77 (1.65)	27.67 (1.81)	0.36	27.85 (1.56)	27.76 (1.76)	0.36
WML (% of WM volume)	2.25 (1.72)	2.14 (1.93)	0.30	2.21 (1.75)	2.09 (1.95)	0.32

Values are means (standard deviations) or percentages. *P* is for the comparison between men and women (Student's *t*-tests or Chi-squared tests). BMI, body mass index; SBP and DBP, systolic and diastolic blood pressures; CES-D, Center for epidemiological study depression scale; MMSE, mini-mental scale examination. WML, white matter lesion as a percentage of white matter (WM) volume.

Table 2 | Smoking history of former and current smokers in the baseline and follow-up samples.

	Cross-sectional study sample				Longitudinal study sample			
	Men		Women		Men		Women	
	Former	Current	Former	Current	Former	Current	Former	Current
Age when smoking start	18.9 (4.0)	19.2 (5.3)	23.2 (7.4)	24.1 (9.5)	18.7 (4.0)	19.4 (5.9)	23.2 (7.6)	21.6 (7.8)
Age when smoking quit	46.3 (13.0)	n.a.	46.9 (13.6)	n.a.	46.1 (12.5)	n.a.	47.3 (14.1)	n.a.
Years of smoking	27.4 (13.3)	51.1 (12.5)	23.7 (14.0)	48.2 (10.4)	27.3 (12.7)	52.4 (7.0)	24.1 (14.2)	50.6 (8.9)
Years free of smoking	25.9 (12.5)	n.a.	25.1 (13.8)	n.a.	26.0 (12.4)	n.a.	24.5 (13.8)	n.a.
Smoked pack-years	21.4 (18.4)	35.6 (20.2)	15.2 (23.5)	29.0 (18.8)	21.5 (12.5)	33.5 (21.7)	15.3 (24.3)	29.3 (17.3)

Values are means (standard deviations) at the time of participant entry in the study. "Pack-years" are the number of packs of cigarettes smoked per day times the number of years of smoking.

regarding the age at which they started smoking (men starting 4 years earlier than women, $p < 10^{-4}$ for former smokers and $p = 0.0037$ for current smokers). Regarding former smokers, men smoked 3 years more than women, $p = 0.009$ and had a higher lifetime tobacco consumption, consuming 6 pack-years more than women ($p = 0.0037$). Such differences between men and women were not observed in current smokers ($p = 0.27$ and $p = 0.14$, respectively). Note that the most important differences were between the former and current smoker groups in both

sexes, both in term of number of years of smoking ($p < 10^{-4}$ for both sexes) and number of pack-years ($p < 10^{-4}$ for men and $p = 0.0019$ in women).

Average brain phenotypes derived from MRI are shown in Table 3. At entry, cross-sectional and longitudinal samples slightly differed regarding HIP volume in men ($p = 0.001$), and WB ($p = 0.022$), GM ($p = 0.0007$) and HIP ($p < 10^{-4}$) volumes in women. As expected, men exhibited larger TIV, WB, GM, WM, and HIP volumes than women both at entry and follow-up

Table 3 | MRI-derived brain phenotypes of the men and women subgroups of participants at entry and follow-up (about 4 years after their entry in the study), and their annual variation.

	Cross-sectional sample		Longitudinal sample		Longitudinal sample		Longitudinal sample		<i>p</i>
	At entry		At entry		At follow-up		Annual variation		
	Men	Women	Men	Women	Men	Women	Men	Women	
TIV	1462 (116)	1297 (94)	1462 (111)	1294 (94)	1460 (111)	1291 (94)	−0.48 (1.25)	−0.73 (1.03)	0.0003
nS	1484 (122)	1297 (98)	1491 (114)	1293 (93)	1489 (114)	1290 (93)	−0.56 (1.08)	−0.76 (1.05)	0.061
fS	1450 (114)	1293 (102)	1446 (110)	1290 (96)	1445 (111)	1288 (96)	−0.41 (1.35)	−0.58 (0.91)	0.27
cS	1463 (100)	1317 (125)	1471 (91)	1330 (118)	1469 (90)	1328 (118)	−0.61 (1.15)	−0.59 (0.90)	0.95
WB	1043 (86)	937 (76)	1046 (88)	940 (76)	1028 (86)	921 (73)	−5.00 (3.06)	−5.34 (2.92)	0.068
nS	1062 (89)	937 (75)	1070 (91)	940 (74)	1052 (90)	921 (72)	−5.13 (2.73)	−5.38 (2.89)	0.37
fS	1036 (86)	933 (78)	1033 (87)	935 (75)	1016 (86)	918 (72)	−4.73 (2.95)	−4.88 (3.05)	0.67
cS	1032 (67)	942 (86)	1045 (65)	952 (91)	1023 (61)	930 (93)	−6.32 (4.24)	−6.14 (3.02)	0.86
GM	539 (46)	489 (42)	540 (47)	492 (42)	527 (45)	476 (40)	−3.63 (3.27)	−4.49 (2.98)	< 10 ^{−4}
nS	548 (50)	489 (41)	553 (50)	492 (41)	539 (50)	475 (40)	−3.81 (3.06)	−4.52 (2.94)	0.018
fS	535 (45)	490 (46)	535 (45)	492 (45)	522 (44)	477 (41)	−3.43 (3.25)	−4.19 (3.27)	0.054
cS	531 (36)	495 (50)	535 (37)	501 (54)	519 (33)	483 (55)	−4.33 (3.92)	−4.94 (2.78)	0.50
WM	505 (48)	447 (42)	506 (49)	447 (42)	500 (48)	445 (41)	−1.37 (2.26)	−0.85 (2.20)	0.0002
nS	514 (47)	448 (43)	517 (48)	449 (42)	513 (49)	446 (41)	−1.31 (2.33)	−0.86 (2.21)	0.044
fS	501 (49)	443 (40)	499 (49)	443 (38)	494 (49)	441 (39)	−1.30 (2.21)	−0.70 (2.21)	0.024
cS	502 (41)	446 (44)	510 (39)	451 (46)	504 (38)	447 (49)	−1.99 (2.27)	−1.21 (1.85)	0.15
HIP	7.01 (0.84)	6.40 (0.73)	7.08 (0.83)	6.46 (0.72)	6.84 (0.87)	6.20 (0.78)	−0.066 (0.069)	−0.071 (0.062)	0.17
nS	7.11 (0.85)	6.41 (0.73)	7.21 (0.84)	6.46 (0.72)	6.97 (0.88)	6.22 (0.78)	−0.069 (0.063)	−0.069 (0.061)	0.92
fS	6.97 (0.84)	6.32 (0.71)	7.03 (0.84)	6.39 (0.71)	6.82 (0.88)	6.12 (0.74)	−0.061 (0.067)	−0.074 (0.062)	0.090
cS	6.88 (0.63)	6.44 (0.76)	6.92 (0.63)	6.52 (0.80)	6.61 (0.70)	6.14 (0.87)	−0.089 (0.088)	−0.11 (0.071)	0.41

Values are means (standard deviations, in cm³) for the cross-sectional study sample at entry, and for the longitudinal study sample at entry and at 4-year follow-up. TIV, total intracranial volume; WB, whole brain volume (GM + WM); GM, gray matter volume; WM, white matter volume; HIP, hippocampus volume (left plus right). Annual variation (in cm³/year) is the ratio of the difference between follow-up and entry volume values to the delay between follow-up and entry. nS, non-smokers; fS, former smokers; cS, current smokers; *p* is for the comparison of annual variation of volumes between men and women (One-Way ANOVA).

($p < 10^{-4}$, in all cases). Regarding annualized variation of these phenotypes, we found significant loss of WB, GM, WM, and HIP volumes in both men and women ($p < 10^{-4}$, in all cases). Note that, although men and women did not significantly differ in their annualized rate of WB loss, women exhibited significantly larger annual loss of GM than men, while the opposite was found for WM. However, there was no difference between men and women in their annual rate of HIP volume loss.

EFFECT OF TOBACCO SMOKING ON BRAIN TISSUE VOLUMES

Whole brain

Table 4 reports the effects of tobacco smoking on WB volume, effects size and *post-hoc* significance reported in Figure 1. Effect on WB volume at entry failed to reach significance both in men and in women ($p = 0.057$ and $p = 0.12$, respectively). The trend observed in men was due to a lower WB volume in current smokers compared to never smokers ($p = 0.017$, *post-hoc* test, see Figure 1). There was no significant linear correlation between WB volume and pack-years of men current smokers (regression slope = -0.027 , $p = 0.64$, $N = 49$).

The annualized rate of WB loss was significantly affected by smoking status in men but not in women ($p = 0.034$ and $p = 0.12$, respectively), although both groups exhibited similar profiles (see Figure 2). In men, current smokers exhibited significantly higher WB rate of atrophy than both never smokers and former smokers ($p = 0.0094$ and $p = 0.031$, respectively;

post-hoc t-test). However, there was no significant linear correlation between WB rate of atrophy and pack-years in men current smokers ($p = 0.10$).

Gray matter

Here, the patterns of smoking were very different between men and women. Smoking was found to have a significant effect on GM volume at entry in men but not in women ($p = 0.039$ and $p = 0.92$, respectively, Table 5). Men who were current smokers at the time of the study had a smaller GM volume than both never smokers and former smokers ($p = 0.011$ and $p = 0.047$, respectively, *post-hoc t-tests*, Figure 1), while there here was no difference between the two latter groups ($p = 0.23$, *post-hoc t-test*). The size of the effect of smoking in men (0.25 s.u. for the difference between never smokers and current smokers) was similar to that of age (0.25 s.u.) and much larger than those of the other covariates (except TIV). Such reduction of GM volume in current smokers was not significantly correlated with their pack-years ($p = 0.64$).

Meanwhile, we found that the annualized rate of loss of GM was not modified by the participant smoking status, neither in men ($p = 0.57$) nor in women ($p = 0.55$).

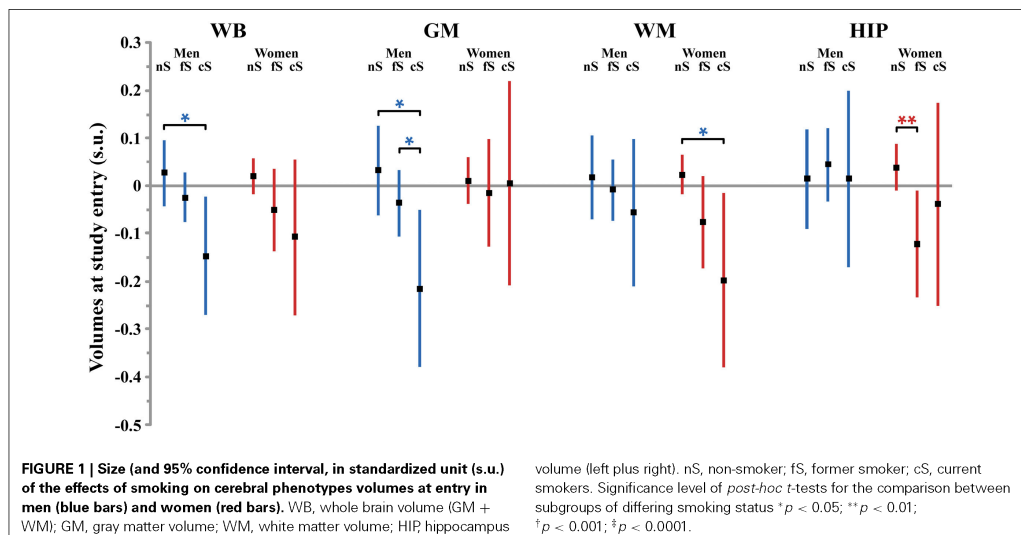
White matter

Smoking was found to have a significant effect on WM volume at entry in women but not in men ($p = 0.015$ and $p = 0.71$,

Table 4 | Cross-sectional and longitudinal analyses of tobacco smoking and other covariate effects on whole brain volume.

	Cross-sectional analysis (entry time)				Longitudinal analysis			
	Men		Women		Men		Women	
	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value
Smoking status	*	0.057	*	0.12	*	0.034	*	0.12
Age	-0.19	<10⁻⁴	-0.26	<10⁻⁴	-0.016	0.77	0.098	0.011
ApoE-ε ₄ [†]	0.081	0.061	-0.012	0.77	-0.10	0.39	-0.084	0.37
Alcohol	-0.043	0.025	-0.025	0.12	0.023	0.66	0.076	0.041
BMI	0.011	0.58	0.023	0.18	0.045	0.40	0.0034	0.93
CES-D	0.032	0.088	-0.023	0.15	0.047	0.35	0.013	0.73
Cholesterolemia	0.0087	0.64	-0.030	0.065	-0.083	0.10	0.031	0.41
Education	-0.070	0.0004	-0.036	0.038	-0.038	0.46	0.049	0.21
Glycaemia	-0.077	<10⁻⁴	-0.023	0.17	-0.029	0.57	-0.10	0.009
MMSE	-0.0024	0.90	-0.0031	0.86	-0.083	0.12	-0.00026	0.99
SBP	-0.011	0.66	0.035	0.11	-0.0059	0.93	-0.076	0.14
DBP	0.0083	0.74	-0.018	0.41	-0.0031	0.97	0.082	0.10
WML	-0.015	0.42	-0.010	0.54	0.0073	0.88	0.040	0.28
TIV	0.86	<10⁻⁴	0.83	<10⁻⁴	-0.17	0.0011	-0.13	0.0007

Effect size is in standardized unit. P-value is the effect significance level. BMI, body mass index; SBP and DBP, systolic and diastolic blood pressure; CES-D, Center for epidemiological study depression scale; MMSE, mini-mental scale examination; WML, white matter lesion. TIV, total intracranial volume. *See **Figures 1, 2**; [†]Effect size is carriers–non carriers. Bold values indicate effect significance level < 0.05.



respectively, **Table 6**). Women who were never smokers had a significantly larger WM volume than current smokers ($p = 0.020$, *post-hoc* t-test, **Figure 1**) while the difference with the former smokers was close to significance ($p = 0.055$, *post-hoc* t-test). In addition, the linear correlation between pack-years and WM volume at entry time in women who were either former or current smokers was close to significance (regression slope = -0.077 , $p = 0.062$).

There was no effect of smoking on the annualized loss of WM tissue, neither in men ($p = 0.10$) nor in women ($p = 0.47$).

Hippocampus

Smoking was found to have additional significant specific effects on hippocampal volume in women but not in men ($p = 0.028$ and $p = 0.89$, respectively; **Table 7**). Specifically, former smoker women had smaller HIP volume than never smokers ($p = 0.008$,

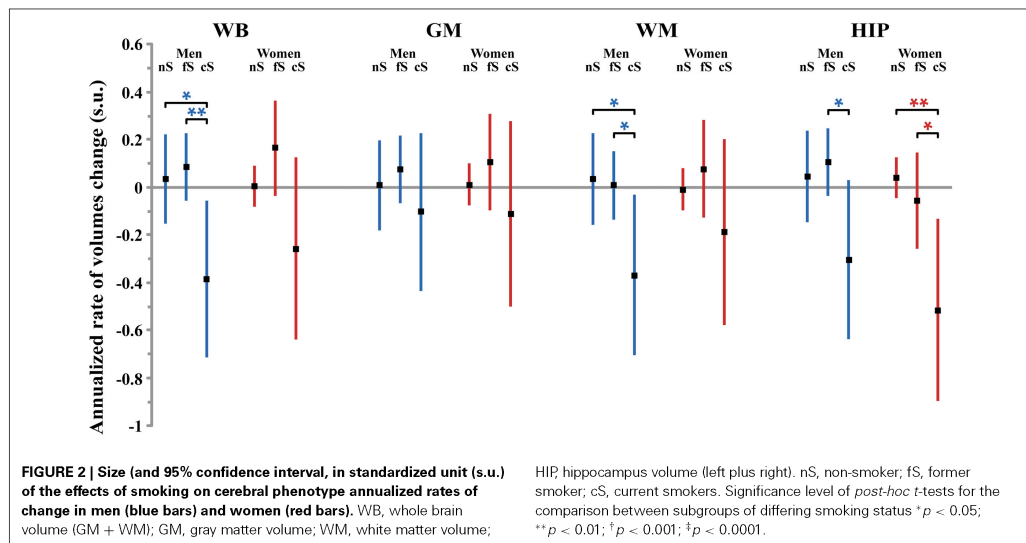


Table 5 | Cross-sectional and longitudinal analyses of tobacco smoking and other covariate effects on gray matter volume.

	Cross-sectional analysis (entry time)				Longitudinal analysis			
	Men		Women		Men		Women	
	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value
Smoking status	*	0.039	*	0.92	*	0.57	*	0.55
Age	-0.25	<10⁻⁴	-0.35	<10⁻⁴	-0.062	0.25	0.072	0.066
ApoE-ε ₄ [†]	0.13	0.025	-0.028	0.60	-0.15	0.20	-0.10	0.29
Alcohol	-0.0078	0.76	-0.030	0.15	-0.053	0.30	0.079	0.036
BMI	-0.013	0.62	-0.0072	0.74	0.0065	0.90	0.039	0.33
CES-D	0.00059	0.98	-0.037	0.083	0.097	0.059	0.028	0.46
Cholesterolemia	-0.0079	0.75	-0.020	0.34	-0.083	0.10	0.062	0.10
Education	-0.031	0.23	0.015	0.50	-0.020	0.70	0.020	0.61
Glycaemia	-0.076	0.003	-0.028	0.20	-0.032	0.53	-0.079	0.043
MMSE	0.033	0.21	0.025	0.26	-0.087	0.10	-0.0037	0.92
SBP	-0.015	0.65	0.043	0.14	0.025	0.73	-0.034	0.52
DBP	-0.010	0.76	-0.032	0.26	-0.049	0.49	0.028	0.58
WML	-0.092	0.0003	-0.090	<10⁻⁴	-0.034	0.51	0.00072	0.98
TIV	0.74	<10⁻⁴	0.65	<10⁻⁴	-0.18	0.001	-0.075	0.047

Effect size is in standardized unit. P-value is the effect significance level. BMI, body mass index; SBP and DBP, systolic and diastolic blood pressure; CES-D, Center for epidemiological study depression scale; MMSE, mini-mental scale examination. WML, white matter lesion. TIV, total intracranial volume. * See Figures 1, 2. [†] Effect size is carriers–non carriers. Bold values indicate effect significance level < 0.05.

post-hoc t-test; see Figure 1), while there was no difference between current smokers and the two other subgroups ($p = 0.56$ and $p = 0.43$ for the comparison with non-smokers and former smokers, respectively, *post-hoc* t-test). In addition, a very significant linear correlation was found between pack-years and HIP volume at entry time in women who were former smokers (regression slope = -0.17 , $p = 0.0014$, $N = 128$, see Figure 3).

Regarding the annualized rate of HIP volume loss (corrected for whole GM volume at entry), we found an effect of smoking that was significant in women ($p = 0.016$) and close to significance in men ($p = 0.08$). *Post-hoc* t-tests revealed the same pattern for men and women (see Figure 2), namely that the HIP volume annualized loss was larger for current smokers than either for never smokers ($p = 0.078$ and

Table 6 | Cross-sectional and longitudinal analyses of tobacco smoking and other covariate effects on white matter volume.

	Cross-sectional analysis (entry time)				Longitudinal analysis			
	Men		Women		Men		Women	
	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value
Smoking status	*	0.71	*	0.015	*	0.10	*	0.47
Age	-0.11	<10⁻⁴	-0.11	<10⁻⁴	0.068	0.21	0.033	0.41
ApoE-ε ₄ [†]	0.020	0.71	0.0060	0.90	0.084	0.48	0.026	0.79
Alcohol	-0.069	0.004	-0.014	0.43	0.11	0.041	-0.0060	0.87
BMI	0.032	0.19	0.048	0.011	0.052	0.35	-0.048	0.23
CES-D	0.057	0.016	-0.0048	0.79	-0.076	0.15	-0.021	0.59
Cholesterolemia	0.023	0.32	-0.033	0.066	0.0084	0.87	-0.043	0.25
Education	-0.095	<10⁻⁴	-0.079	<10⁻⁴	-0.023	0.67	0.038	0.34
Glycaemia	-0.065	0.007	-0.013	0.48	0.0070	0.89	-0.027	0.50
MMSE	-0.036	0.14	-0.030	0.11	0.014	0.80	0.0047	0.90
SBP	-0.0050	0.88	0.020	0.42	-0.044	0.55	-0.055	0.29
DBP	0.025	0.43	-0.00028	0.99	0.068	0.35	0.070	0.17
WML	0.061	<10⁻⁴	0.071	<10⁻⁴	0.059	0.26	0.053	0.17
TIV	0.82	0.010	0.85	<10⁻⁴	0.019	0.72	-0.067	0.081

Effect size is in standardized unit. P-value is the effect significance level. BMI, body mass index; SBP and DBP, systolic and diastolic blood pressure; CES-D, Center for epidemiological study depression scale; MMSE, mini-mental scale examination. WML, white matter lesion. TIV, total intracranial volume. * See Figures 1, 2; [†] Effect size is carriers–non carriers. Bold values indicate effect significance level < 0.05.

Table 7 | Cross-sectional and longitudinal analyses of tobacco smoking and other covariate effects on hippocampus volume.

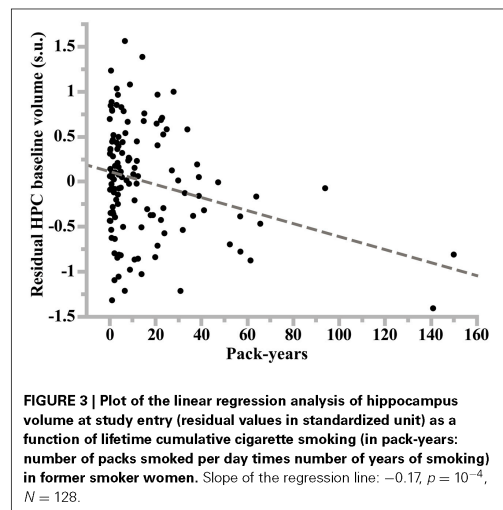
	Cross-sectional analysis (entry time)				Longitudinal analysis			
	Men		Women		Men		Women	
	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value
Smoking status	*	0.89	*	0.028	*	0.080	*	0.016
Age	-0.12	0.0001	-0.15	<10⁻⁴	0.081	0.15	-0.11	0.009
ApoE-ε ₄ [†]	-0.13	0.047	-0.069	0.20	-0.20	0.094	-0.035	0.71
Alcohol	-0.055	0.054	0.043	0.039	0.00001	0.99	0.051	0.17
BMI	0.049	0.098	0.022	0.31	0.067	0.21	-0.023	0.56
CES-D	-0.052	0.065	-0.045	0.030	0.028	0.59	-0.035	0.35
Cholesterolemia	-0.025	0.38	-0.025	0.22	-0.057	0.27	0.029	0.44
Education	0.029	0.31	-0.031	0.17	-0.025	0.63	-0.0070	0.86
Glycaemia	-0.042	0.14	-0.019	0.36	0.029	0.58	0.064	0.097
MMSE	-0.032	0.28	-0.00063	0.98	-0.037	0.49	-0.014	0.72
SBP	0.030	0.44	0.026	0.36	-0.044	0.55	0.067	0.19
DBP	-0.0085	0.82	-0.034	0.24	0.065	0.37	0.00065	0.99
WML	-0.043	0.13	-0.045	0.033	-0.043	0.40	-0.14	0.0003
GM	0.72	<10⁻⁴	0.71	<10⁻⁴	-0.11	0.055	-0.0085	0.84

Effect size is in standardized unit. P-value is the effect significance level. BMI, body mass index; SBP and DBP, systolic and diastolic blood pressure; CES-D, Center for epidemiological study depression scale; MMSE, mini-mental scale examination. WML, white matter lesion. GM, gray matter volume. * See Figures 1, 2; [†] Effect size is carriers–non carriers. Bold values indicate effect significance level < 0.05.

$p = 0.0053$, for men and women, respectively, *post-hoc t*-tests) or for former smokers ($p = 0.025$ and $p = 0.036$, for men and women, respectively, *post-hoc t*-tests). Such a larger rate of HIP volume loss was not correlated with the current smokers pack-years, either in men ($p = 0.09$) or in women ($p = 0.69$).

Pooled analysis

Analysis of baseline volumes in the pooled sample of men and women (see Table 8) revealed a significant effect of smoking on WB and WM, but not on GM and HIP, current smokers having significant lower WB and WM volumes than non-smokers (volume difference = 0.13 s.u. in both cases, $p = 0.004$ and



$p = 0.023$, for WB and WM, respectively), and former smokers having lower WB volume than non-smokers (volume difference = 0.053 s.u., $p = 0.046$). There was a sex main effect on WB and GM volumes, women having smaller TIV-corrected WB and GM volumes than men (WB volume difference = 0.081 s.u., $p = 0.043$; GM volume difference = 0.12 s.u., $p = 0.031$). There was no sex by smoking interaction on any baseline volume.

Regarding annualized rate of tissue volume losses (Table 9), we found a significant effect of smoking for WB and HIP only: in both cases, current smokers had increased rates of tissue loss when compared to either never or former smokers (difference in rates of WB volume loss = 0.34 and 0.45 s.u., respectively, $p = 0.014$ and 0.001 , respectively; difference in rates of HIP volume loss = 0.45 s.u. in both cases, $p = 0.001$ in both cases). There was a sex main effect on the annualized WB and GM volume loss, women having larger rates of volume loss than men (difference in rates of volume loss = 0.34 and 0.48 s.u., $p = 0.005$ and $p < 10^{-4}$, respectively). There was no sex by smoking interaction on any annualized tissue volume loss.

Effects of covariates

At entry in the study, we found strong and significant effects of age and TIV (resp. GM volume) on WB, GM, and WM volumes (resp. HIP volume), both in men and in women (see Figure 4 and Tables 4–7). TIV and age showed the largest effect sizes of all covariates. On the contrary, age and TIV had much smaller effects on annualized rates of brain tissue losses: significant TIV effects were observed on the annualized rates of WB and GM in both sexes with a trend on HIP in men, whereas age effect was significant only on the annualized rates of WB and HIP loss in women with a trend on the GM volume in women (see Figure 5). Interestingly, when significant, the size of tobacco smoking effect was of the same order of magnitude as that of age (see Figures 1, 4).

Other covariates had fewer, usually less significant, and smaller effects than TIV and age.

WM lesion charge had similar effects in both sexes at entry in the study: positive on WM volume and negative on GM volume, resulting in no effect on WB volume. Regarding the annualized rates of tissues losses, WML charge was negatively correlated with the annualized rate of HIP volume loss.

Education negatively correlated with baseline WB and WM volumes in men as well as in women (see Tables 4, 6), but had no effect on annualized rates of tissue loss.

Male participants carrying $\epsilon 4$ allele(s) had significantly higher baseline GM volumes than non-carriers, while having a reduced HIP baseline volume.

In men, alcohol consumption was associated with reduced baseline WB and WM volumes, while was positively associated with the annualized rate of WM loss. In women, alcohol increased baseline HIP volume and reduced annualized WB and GM loss.

Glycaemia had significant negative effects on baseline WB, GM, and WM volumes in men but not in women. However, it was associated with increased annualized WB and GM loss in women only.

The other covariates either had very few and small sized effects (BMI, CES-D) or no effect at all (MMSE, cholesterol, SBP and DBPs).

Pooling men and women resulted in very similar results regarding effects of covariates, the larger sample size helping some effects reaching the 0.05 significance level (see for example the negative effect of MMSE on baseline WM volume). In very few cases, where the covariate had opposite effects in men and women, discrepant results were observed between the pooled and the stratified analyses (see for instance the effect of ApoE- $\epsilon 4$ on baseline GM volume, of alcohol on baseline HIP volume, or the effect of age on the longitudinal analysis of WB volume changes).

DISCUSSION

In a large sample of healthy elderly participants, we have found both sex-independent and sex-dependent effects of smoking on brain atrophy. In men, we observed reduced GM volumes at baseline and trends for increased annualized rate of WM and HIP loss. In women, we found reduced WM, and HIP volumes at baseline and increased annualized rate of HIP loss.

METHODOLOGICAL ISSUES

We have identified in the literature five cohort studies that used quantitative MRI for addressing the issue of tobacco-smoking impact on brain aging in healthy elderly individuals (Enzinger et al., 2005; Ikram et al., 2008; Debette et al., 2011; Durazzo et al., 2012; Hoogendam et al., 2012, see Table 10). Before comparing our findings with these previous reports, we think it is worthwhile listing the similarities and differences in the methodology implemented in these studies and in ours.

Cohort study design

The present study was based on a design allowing investigation of tobacco-related effects on atrophy both cross-sectionally in 1451 healthy older adults and longitudinally in 1111 of them after 4 years. Two previous studies (Enzinger et al., 2005; Durazzo

Table 8 | Cross-sectional analysis of tobacco smoking and other covariate effects on tissue volumes in the pooled sample of men and women.

	WB		GM		WM		HIP	
	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value
Smoking status		0.007		0.11		0.039		0.31
Sex *	0.081	0.043	0.12	0.031	0.034	0.47	−0.052	0.38
Smoking by sex		0.74		0.16		0.55		0.12
Age	−0.19	<10^{−4}	−0.28	<10^{−4}	−0.089	<10^{−4}	−0.12	<10^{−4}
ApoE-ε ₄ †	0.027	0.28	0.038	0.27	0.012	0.68	−0.095	0.013
Alcohol	−0.036	0.002	−0.022	0.17	−0.044	0.002	−0.012	0.48
BMI	0.017	0.12	−0.0071	0.64	0.037	0.004	0.029	0.084
CES-D	−0.0058	0.58	−0.024	0.095	0.012	0.32	−0.044	0.006
Cholesterolemia	−0.012	0.26	−0.012	0.40	−0.0097	0.43	−0.022	0.16
Education	−0.042	<10^{−4}	−0.0033	0.83	−0.073	<10^{−4}	−0.0042	0.80
Glycaemia	−0.038	0.0004	−0.041	0.005	−0.030	0.018	−0.029	0.073
MMSE	−0.0013	0.91	0.024	0.10	−0.025	0.048	−0.011	0.51
SBP	0.015	0.30	0.019	0.33	0.0088	0.61	0.023	0.30
DBP	−0.0075	0.60	−0.023	0.23	0.0086	0.61	−0.019	0.38
WML	−0.0091	0.38	−0.078	<10^{−4}	0.057	<10^{−4}	−0.041	0.009
TIV (†SG)	0.89	<10^{−4}	0.75	<10^{−4}	0.89	<10^{−4}	0.75[‡]	<10^{−4}

WB, whole brain volume (GM + WM); GM, gray matter volume; WM, white matter volume; HIP, hippocampus volume (left plus right). Effect size is in standardized unit. P-value is the effect significance level. BMI, body mass index; SBP and DBP, systolic and diastolic blood pressure; CES-D, Center for epidemiological study depression scale; MMSE, mini-mental scale examination. WML, white matter lesion. TIV, total intracranial volume. * Effect size is men–women; † Effect size is carriers–non carriers. ‡ SG used as a covariate instead of TIV. Bold values indicate effect significance level < 0.05.

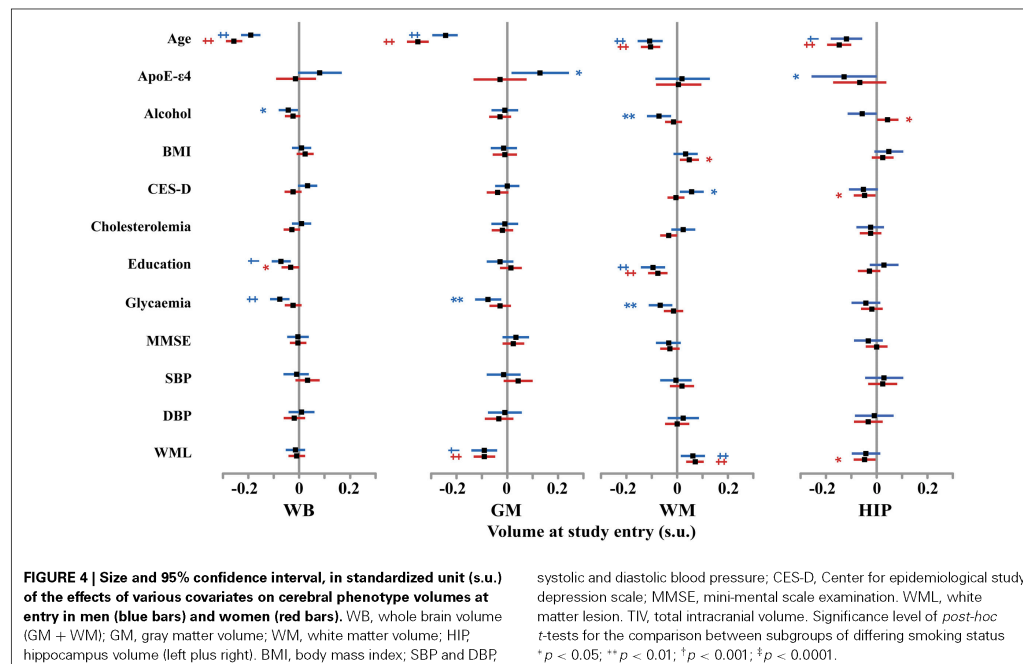
Table 9 | Longitudinal analysis of tobacco smoking and other covariate effects on the annualized rate of tissue volume losses in the pooled sample of men and women.

	WB		GM		WM		HIP	
	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value	Effect size	p-value
Smoking status		0.005		0.23		0.12		0.004
Sex *	0.34	0.005	0.48	<10^{−4}	−0.22	0.079	0.015	0.90
Smoking by sex		0.68		0.93		0.78		0.47
Age	0.064	0.039	0.034	0.28	0.038	0.22	−0.097	0.004
ApoE-ε ₄ †	−0.11	0.15	−0.14	0.065	0.049	0.51	−0.11	0.15
Alcohol	0.066	0.055	0.020	0.55	0.059	0.088	0.024	0.48
BMI	0.010	0.75	0.022	0.49	−0.017	0.59	0.0092	0.77
CES-D	0.021	0.50	0.046	0.14	−0.036	0.25	−0.020	0.52
Cholesterolemia	−0.0060	0.84	0.011	0.71	−0.024	0.44	−0.0069	0.82
Education	0.015	0.63	0.0049	0.88	0.013	0.68	−0.012	0.71
Glycaemia	−0.066	0.034	−0.054	0.082	−0.012	0.70	0.053	0.094
MMSE	−0.026	0.41	−0.027	0.38	0.0041	0.90	−0.022	0.49
SBP	−0.060	0.16	−0.020	0.64	−0.052	0.23	0.031	0.47
DBP	0.057	0.17	0.0060	0.89	0.068	0.11	0.019	0.64
WML	0.032	0.29	−0.0077	0.80	0.053	0.083	−0.10	0.0006
TIV (†SG)	−0.18	<10^{−4}	−0.14	0.0002	−0.044	0.26	−0.056 [‡]	0.14

WB, whole brain volume (GM + WM); GM, gray matter volume; WM, white matter volume; HIP, hippocampus volume (left plus right). Effect size is in standardized unit. P-value is the effect significance level. BMI, body mass index; SBP and DBP, systolic and diastolic blood pressure; CES-D, Center for epidemiological study depression scale; MMSE, mini-mental scale examination. WML, white matter lesion. TIV, total intracranial volume. * Effect size is men–women; † Effect size is carriers–non carriers. ‡ SG used as a covariate instead of TIV. Bold values indicate effect significance level < 0.05.

et al., 2012) used the same kind of design, albeit on much smaller sample sizes ($N = 186$ including 144 at 2 year follow-up, and $N = 201$ at baseline and follow-up, respectively); two others were purely cross-sectional (Ikram et al., 2008; Hoogendam et al., 2012;

$N = 3952$ and $N = 490$, respectively) and one reported only longitudinal data (Debette et al., 2011; $N = 1352$; 6 years follow-up). As regards the mean age of our sample, it falls within the range of previous studies sample mean age [60, 76].



Smoking consumption descriptors

All previous studies used categories similar to ours for describing the status of participants with respect to smoking, namely never, former or current smoker at the time of their participation in the study. In some studies, former smokers were pooled either with current smokers (Enzinger et al., 2005; Durazzo et al., 2012) or with non-smokers (Debette et al., 2011). With that respect, it is important to note that the number of current smokers in the (Durazzo et al., 2012) study was extremely small (5 to be compared to 58 former smokers) so findings of this study really concern former smokers which make them hardly comparable with those of Debette et al. (2011) established in a sample of 197 current smokers. In addition, previous studies lack details on individual smoking habits such as duration and quantity of smoking (pack-years), or dates when former smokers quit smoking. As a matter of fact, only one study (Durazzo et al., 2012) attempted at testing a dose dependent relationship between smoking and brain atrophy using lifetime smoking duration, a quantitative variable related to the number of pack-years used in our study.

Cerebral phenotypes

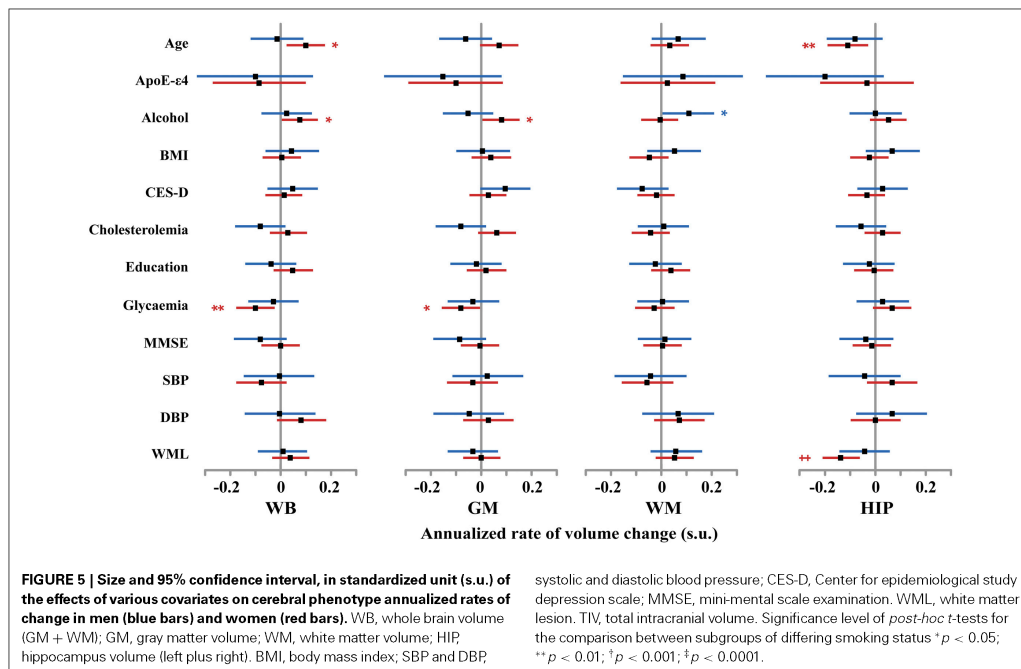
Here, in addition to WB volume, we studied the effect of tobacco separately for gray and WM, which has been done by only one of the previous studies (Ikram et al., 2008), whereas others preferred studying atrophy of either the WB volume (Enzinger et al., 2005; Debette et al., 2011; Hoogendam et al., 2012) or of sets of ad'hoc regions of interest (Durazzo et al., 2012). There are several reasons

why GM and WM should be studied separately. First, their life-time course are very different (Good et al., 2001; Abe et al., 2010), and some have suggested that their rate of atrophy during aging are very different (Smith et al., 2007). Second, the cellular content and vascular fraction of the two tissues are very different and one cannot thus a priori exclude the possibility of different pathophysiological effects of tobacco in each tissue. Third, GM and WM fraction are known to be different between men and women (Allen et al., 2003; Lemaitre et al., 2005; Leonard et al., 2008), which also calls for a separate analysis.

In addition to WB, GM, and WM we also investigated HIP atrophy, a target area for age-related disorders that was also analyzed by Durazzo et al. (2012) and by Debette et al. (2011), the latter using the temporal horn CSF volume as a surrogate marker for HIP volume.

Taking into account sex confounding effects

We believe sex segregation to be desirable for studies dealing with brain atrophy because of the potential confounding effect of sex due to differences between men and women in lifestyle, including tobacco consumption, and health parameters (Table 1). Such differences have indeed been shown by others to have significant sex-specific impact on brain aging in cognitively unimpaired elderly individuals (Franke et al., 2014). Thanks to the large sample size of the 3C-D-MRI cohort, we were able to assess tobacco-smoking effects separately in men and in women, while keeping high statistical power. Among previous studies, one made



no mention at all of a sex effect (Enzinger et al., 2005), others included a sex effect when analyzing atrophy but did not investigate sex-dependent tobacco effects (Debette et al., 2011; Durazzo et al., 2012; Hoogendam et al., 2012), and one specifically mentioned testing interaction between sex and tobacco effects but did not report on it (Ikram et al., 2008). Actually, in the literature, we found only one study reporting tobacco impacts separately in men and in women, but the findings were based on a visual grading of brain atrophy (Longstreth et al., 2000).

In the present study, sex-segregated analysis allowed uncovering sex-specific of smoking on brain atrophy and notably that GM (resp. WM) was primarily affected by smoking in men (resp. in women). It also helped demonstrating that, despite similar trends, quantitative effects of smoking could be quite different in men and women, reaching significance in a subgroup but not in the other.

EFFECT OF TOBACCO CONSUMPTION ON WHOLE BRAIN VOLUME

In our study, males who were still smoking after 65 had a strong trend of reduced baseline WB volume as compared to never smokers. This finding is in agreement with those of Ikram et al. (2008) and Hoogendam et al. (2012) who reported reduced WB volume in current smokers only. That such difference was not found in other cross-sectional studies (Enzinger et al., 2005; Durazzo et al., 2012) is likely to be due to the relatively small sample size and consequent lack of statistical power of these latter studies.

The present longitudinal analysis demonstrated that male current smokers had a very significant increase in their annualized rate of WB loss as compared to both never or former smokers, consistent with the findings of the Debette et al. (2011) study in which never and former smokers were pooled. Here, in addition, we also demonstrate that former smokers did not differ from never smokers in their WB rate atrophy, indicating that deleterious effects of smoking on brain atrophy stops when individuals quit smoking. Again, we believe that absence of similar findings in the Enzinger et al. (2005) longitudinal study may be attributed to a lack of statistical power or to the fact that they grouped former and current smokers in the same group.

In women, we did not find significant effects of smoking on WB baseline volume or annualized rate of loss. Here, a close look at the profiles of WB volumes at study entry across smoking status categories shows that effects of smoking on WB in women followed the same pattern as in men, albeit with smaller amplitude, but never reached significance. This is likely to be due to smaller smoking duration and intensity in women as compared to men, and also possibly to specific effects of hormone replacement therapy on brain atrophy.

Note that pooling men and women would have led us to conclude for a sex-independent effect of smoking on WB volume at study entry, similar what as reported by Ikram et al. (2008) and Hoogendam et al. (2012) studies, and also on its annualized rate of atrophy (Tables 8, 9). However, such pooling would have

Table 10 | Main characteristics and findings of quantitative MRI past studies of tobacco-effects on brain atrophy.

Reference (cohort)	Design (N, delay)	Age	Smoking status	Brain phenotypes	Main findings
DeBette et al., 2011 (Framingham)	Long (1352, 6.3 years)	61	nS + fS: 1155 (85%) cS: 197 (15%)	GM + WM THV	cS: increased annual loss (resp. gain) in GM + WM (resp. THV)
Durazzo et al., 2012 (ADNI)	Cross (186)	76	nS: 118 (63%) fS: 63 (34%) cS: 5 (3%)	BREOS and AD ROIs	cS + fS: smaller SFG related to longer smoking duration
	Long (144, 2 years)		nS: 92 (64%) fS + cS: 52 (46%)	BREOS and AD ROIs Other GM ROIs, GM	cS + fS: greater atrophy rate smokers in BREOS and AD ROIs, but not in other GM ROI's or whole GM; greater loss in SFG related to longer smoking duration
Enzinger et al., 2005 (ASPS)	Cross (201)	60	nS: 122 (61%) fS + cS: 79 (39%)	GM + WM (in %TIV)	No effect of smoking
	Long (201, 6 years)				No effect of smoking
Hoogendam et al., 2012 (Rotterdam)	Cross (3962)	60	nS: 1154 (29%) fS: 2076 (53%) cS: 709 (18%)	GM + WM	Reduced GM + WM volume in cS but not in fS
Ikram et al., 2008 (Rotterdam)	Cross (563)	73	nS: 211 (27%) fS: 265 (54%) cS: 87 (18%)	GM, WM, GM + WM	Reduced GM + WM volume in cS but not in fS

Design: study design (cross: Cross-sectional, Long: longitudinal), sample size (N) and delay between the first and last MRI exams (for longitudinal design, in years). Age: mean participant's age at their first MRI exam. Smoking status: nS, fS, cS: never, former, current smokers. Brain phenotypes: gray matter (GM) and white matter (WM); THV, temporal horn volume; ROIs = regions of interest; BREOS, Brain Reward Executive Oversight System; AD, Alzheimer's disease; SFG, superior frontal gyrus.

concealed sex-dependent specific effects of smoking not only on WB, but also on GM, WM, and HIP atrophy.

TISSUE- AND SEX-SPECIFIC EFFECTS OF SMOKING ON GRAY AND WHITE MATTER VOLUMES

As a matter of fact, as opposed to WB volume, effects of smoking on GM volume at entry time show distinct patterns between men and women. Baseline GM volume was modified by smoking in men, but not in women, the volume being lower in current smokers than in former or non-smokers. On the contrary, baseline WM volume was modified by smoking in women but not in men, the volume being again lower in current smokers than in former or never smokers. Among the five studies reported in Table 10, the study by Ikram et al. (2008) was the only one that investigated tissue-specific effects of smoking on baseline GM and WM volumes, reporting no significant smoking effect and no interaction between smoking and sex, only mentioning that “*current smoking was more related to total WM than GM*.” There have been other studies that investigated smoking effects on gray (Brody et al., 2004; Gallinat et al., 2006; Fritz et al., 2014) or WM (Yu et al., 2011; Fritz et al., 2014), but these studies reported effects on specific structures rather on whole tissue volumes. Thus, additional studies are needed in order to confirm and explain this sex-related

difference in smoking effects on GM and WM. For both men and women, effects of smoking on tissue volumes were apparent in participants who were current smokers at the time of their entry of the study whereas former smokers seemed to be free of such tissue loss when compared to never smokers. Consequently grouping former and current smokers as done in Durazzo et al. (2012) and Enzinger et al. (2005) may have hidden those effects. This effect of smoking on WB volume at entry in current smokers only, also reported by others (Ikram et al., 2008; Hoogendam et al., 2012), is likely to be due to the longer duration and larger pack-years in the current smoker group, and suggests a dose threshold of tobacco consumption for its deleterious effects to take place.

Meanwhile, absence of smoking effect on the annualized GM atrophy rate in either men or women is in agreement with the only other similar report on this topic in which smoking status was found to affect specific GM ROI's but not GM as a whole (Durazzo et al., 2012). As for the annualized WM volume loss due to smoking, we observed a trend for a significant increase in men current smokers only, but a similar pattern was also observed in women. This suggests a possible effect in both sexes and future studies should include WM in analyses to assess this question.

These findings should also be interpreted within the framework of sexual brain dimorphism. In the present study, we found between sex differences regarding both baseline volumes and their rates of atrophy. Specifically, women exhibited larger WB annualized rate of atrophy than men, a finding that, to our knowledge, has never been reported before in such large sample of healthy elderly. We think that drastic changes in circulating hormone concentrations due to menopause in women could be one cause of such phenomenon. Indeed, a previous longitudinal study on a small sample of elderly women has shown that women under hormone replacement therapy (HRT) had smaller brain atrophy rates than those who were not under HRT (Raz et al., 2004). This finding was explained by the break in the neuroprotective effect of estrogens at menopause on the brain of women that did not take HRT (Gandy, 2003). In our study, more than 50% of the women longitudinal sample (406 among the 721) never had HRT which, we believe, explains in part the larger annualized rate of atrophy observed in the entire sample of women as compared to men.

EFFECT OF TOBACCO CONSUMPTION ON HIPPOCAMPUS VOLUME

Baseline HIP volume was affected by smoking status in women only, female former smokers having a lower HIP volume than female never smokers. Moreover, a strong and very significant negative correlation was found between the number of pack-years and the HIP volume in female former smokers. Recall that in this analysis, GM volume was used as a covariate. Accordingly, observation of an absence of effect in men means that smoking has no specific effect on mean HIP as compared to its global effect on GM. In women, we did not find a smoking effect on GM as a whole: accordingly, observation of a smoking effect in women HIP volume means that this area is a site of specific vulnerability to tobacco smoking compared to global GM. To our knowledge, such a result has never been reported. Smoking effects on HIP volume have been rarely reported, the study of Durazzo et al. (2012) being the only one including the hippocampal area as an ROI of interest. However, in this study there was no significant effect on tobacco on baseline HIP, and a sex by smoking interaction was not searched for. In a more recent study in a sample of 82 young-to-middle-aged adults (Durazzo et al., 2013), the same authors did report lower total HIP volume (and subfields volumes) in smokers as compared to non-smokers but their sample included only 6 smoking women which did not allow testing for a sex effect. Other studies based on VBM (Brody et al., 2004; Gallinat et al., 2006; Yu et al., 2011) did not report effect of smoking on the HIP, but they were based on relatively small samples ($N < 50$) of younger participants (including young and middle aged adults), and did not search for a sex by smoking interaction.

As for the HIP annualized rate of atrophy, we observed a significant and strong effect in women with a similar trend in men, current smokers having larger rates of HIP loss, as compared to both former or never smokers. This result is consistent with the finding of Debette et al. (2011) of accelerated temporal horn volume increase in current smokers as opposed to never and former smokers, as well as with the report of Durazzo et al. (2013) showing larger rates of HIP loss in current smokers as compared to non-smokers. It is however in partial disagreement with other findings (Durazzo et al., 2012) reporting accelerated volume loss

of medial temporal GM structures in a group of 52 mainly former smokers, whereas our study indicated no difference in HIP annualized rate of atrophy between non and former smokers. We think that methodological factors are likely to explain this discrepancy.

Overall, our results emphasize HIP as particularly vulnerable to tobacco smoking, as it is to many adverse conditions such as cerebral ischemia, epileptic seizures, and oxidative stress, Wang and Michaelis (2010). Underlying mechanisms for such vulnerability are not well-determined (particularly their causality relationships), but reactive oxygen species known to be abundant in the mainstream of cigarette smoke (Pryor et al., 1993), appear to be potential candidates.

OTHER COVARIATES

As this paper focuses on tobacco smoking and atrophy, we will briefly discuss the largest and most significant effects of these covariates on brain atrophy. Besides, we previously reported elsewhere on effects on brain atrophy of ApoE $\epsilon 4$ genotype (Lemaître et al., 2005b; Crivello et al., 2010), depression (Elbejjani et al., 2014), and WM lesion (Godin et al., 2009). Note also that, with the exception of age and TIV, the size of effects of covariates were usually smaller than those of smoking.

Alcohol

In our study, alcohol was associated with increased WB atrophy, being significant on the WB and WM of men only. These findings fit with previous reports showing alcohol detrimental effect on brain tissue atrophy in both sexes (Hommer et al., 2001; Mukamal et al., 2001; Demirakca et al., 2011), or more marked in men than in women (Pfefferbaum et al., 2001; Anstey et al., 2006). As regards to the HIP, the trend for increased atrophy associated to alcohol agrees with other studies (Harding et al., 1997; Pfefferbaum et al., 2001; Anstey et al., 2006; Demirakca et al., 2011). Note that in our study the effect was observed in men only, which can be explained by the larger alcohol intake in men. Actually, women were found to have reduced HIP atrophy as compared to global GM, which may be mediated by the reduction of cardiovascular risk factors in low level of alcohol intake individuals (Tolstrup et al., 2006). When pooling men and women, our longitudinal analysis showed no significant effect of alcohol intake on the annualized rate of brain atrophy, in apparent contradiction with previous findings of accelerated brain atrophy in heavy drinkers (Akiyama et al., 1997; Enzinger et al., 2005). We think that this discrepant result is explained by the relatively low alcohol intake in our cohort (1.5 and 0.5 drink per day in men and women, respectively).

Glycaemia

In our study, increased glycaemia was associated with increased atrophy of both gray and WM, the association being significant in men only. These results are consistent with previous reports enhanced atrophy of WB with increased glycaemia (Araki et al., 1994; Ikram et al., 2008; Hoogendam et al., 2012) or percentage of glycated hemoglobin A (HbA_{1c}) (Enzinger et al., 2005). Longitudinally, we found higher glycaemia associated with a larger rate of GM atrophy that was significant in women only, a finding in line with that of another longitudinal study (Enzinger

et al., 2005) reporting association a higher rate of brain atrophy with HbA_{1c}.

Body mass index

BMI was positively associated with WM volume, but not with GM, the association being significant in women only. These findings are in agreement with a previous report of increased WM volume in obese adults, this effect being partially reversed by dieting (Haltia et al., 2007). Absence of BMI effect on GM atrophy has also been reported others (Haltia et al., 2007; Debette et al., 2014). Note, however, that two recent studies reported discrepant results, namely increase of the Brain Age score (an index of accelerated cortical aging) with BMI especially in men (Franke et al., 2014), reduced GM atrophy with increased BMI (Bobb et al., 2012). But those differences might be explained by the covariates used in both studies, especially with Bobb et al. (2012) which did not include a sex effect.

As regards the longitudinal analyses, we did not find any change in annualized rates of GM, WM or HIP loss, neither in men nor in women. This is in agreement with the findings reported by Debette et al. (2011), but others have reported partially conflicting findings, namely increased rate of WB atrophy with increased BMI (Enzinger et al., 2005) or reduced rate of WM atrophy with increased BMI (Bobb et al., 2012).

Education

Education was negatively associated with WM, but not with GM, in both sexes, in agreement with previous reports of higher education individuals having increased sulcal CSF volume (Coffey et al., 1999; Longstreth et al., 2000) and thinner cortex in temporal, occipital and parietal areas as well as lower HIP volume (Pillai et al., 2012). Education had, however, not effect on the annualized rates of brain tissue loss. Our result thus argues in favor of the hypothesis stating that education might influence cognitive reserve through connectivity and/or synapses efficiency rather than by neuron numbers.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are indebted to A Elbaz, T Kurth, C Tzourio, and N Tzourio-Mazoyer for their thoughtful comments. The 3C-study is conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), the Victor Segalen-Bordeaux II University, and the Sanofi-Synthelabo Company. The Fondation pour la Recherche Médicale funded the preparation and initiation of the study. The 3C-Study is also supported by the Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés, Direction Générale de la Santé, Haute Autorité de la Santé, Institut National de Prévention et d'Education pour la Santé, Conseils Régionaux de Bourgogne, Fondation de France, Ministry of Research-INSERM Program "Cohortes et collections de données biologiques," Mutuelle Générale de l'Education Nationale, Institut de la Longévité, Conseil Général de la Côte d'or.

REFERENCES

- Abe, O., Yamase, H., Yamada, H., Masutani, Y., Kabasawa, H., Sasaki, H., et al. (2010). Sex dimorphism in gray/white matter volume and diffusion tensor during normal aging. *NMR Biomed.* 23, 446–458. doi: 10.1002/nbm.1479

- Akiyama, H., Meyer, J. S., Mortel, K. F., Terayama, Y., Thornby, J. I., and Konno, S. (1997). Normal human aging: factors contributing to cerebral atrophy. *J. Neurol. Sci.* 152, 39–49. doi: 10.1016/S0022-510X(97)00141-X
- Allen, J. S., Damasio, H., Grabowski, T. J., Bruss, J., and Zhang, W. (2003). Sexual dimorphism and asymmetries in the gray-white composition of the human cerebrum. *Neuroimage* 18, 880–894. doi: 10.1016/S1053-8119(03)00034-X
- Almeida, O. P., Garrido, G. J., Alfonso, H., Hulse, G., Lautenschlager, N. T., Hankey, G. J., et al. (2011). 24-Month effect of smoking cessation on cognitive function and brain structure in later life. *Neuroimage* 55, 1480–1489. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.01.063
- Almeida, O. P., Garrido, G. J., Lautenschlager, N. T., Hulse, G. K., Jamrozik, K., and Flicker, L. (2008). Smoking is associated with reduced cortical regional gray matter density in brain regions associated with incipient Alzheimer disease. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* 16, 92–98. doi: 10.1097/JGP.0b013e318157cad2
- Alpérovitch, A., Amouyel, P., Dartigues, J.-F., Ducimetière, P., Mazoyer, B., Ritchie, K., et al. (2002). [Epidemiological studies on aging in France: from the PAQUID study to the Three-City study]. *C. R. Biol.* 325, 665–672. doi: 10.1016/S1631-0691(02)01476-2
- American Psychiatric Association. (1994). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Washington, DC: American Psychiatric Association.
- Anstey, K. J., Jorm, A. F., Reglade-Meslin, C., Maller, J., Kumar, R., von Sanden, C., et al. (2006). Weekly alcohol consumption, brain atrophy, and white matter hyperintensities in a community-based sample aged 60 to 64 years. *Psychosom. Med.* 68, 778–785. doi: 10.1097/01.psy.0000237779.56500.af
- Anstey, K. J., von Sanden, C., Salim, A., and O'Keamey, R. (2007). Smoking as a risk factor for dementia and cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *Am. J. Epidemiol.* 166, 367–378. doi: 10.1093/aje/kwm116
- Araki, Y., Nomura, M., Tanaka, H., Yamamoto, H., Yamamoto, T., Tsukaguchi, I., et al. (1994). MRI of the brain in diabetes mellitus. *Neuroradiology* 36, 101–103. doi: 10.1007/BF00588069
- Ashburner, J., and Friston, K. J. (2000). Voxel-based morphometry—the methods. *Neuroimage* 11, 805–821. doi: 10.1006/nimg.2000.0582
- Beauchet, O., Celle, S., Roche, F., Bartha, R., Montero-Odasso, M., Allali, G., et al. (2013). Blood pressure levels and brain volume reduction: a systematic review and meta-analysis. *J. Hypertens.* 31, 1502–1516. doi: 10.1097/HJH.0b013e3182836184b5
- Bernhard, D., Moser, C., Backovic, A., and Wick, G. (2007). Cigarette smoke—an aging accelerator? *Exp. Gerontol.* 42, 160–165. doi: 10.1016/j.exger.2006.09.016
- Biessels, G. J., Koffeman, A., and Scheltens, P. (2005). Diabetes and cognitive impairment: clinical diagnosis and brain imaging in patients attending a memory clinic. *J. Neurol.* 253, 477–482. doi: 10.1007/s00415-005-0036-4
- Boada, M., Antunez, C., López-Arrieta, J., Caruz, A., Moreno-Rey, C., Ramirez-Lorca, R., et al. (2012). Estrogen receptor alpha gene variants are associated with Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 33, 198.e15–198.e24. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.06.016
- Bobb, J. F., Schwartz, B. S., Davatzikos, C., and Caffo, B. (2012). Cross-sectional and longitudinal association of body mass index and brain volume. *Hum. Brain Mapp.* 35, 75–88. doi: 10.1002/hbm.22159
- Braak, H., and Braak, E. (1998). Evolution of neuronal changes in the course of Alzheimer's disease. *J. Neural Transm. Suppl.* 53, 127–140. doi: 10.1007/978-3-7091-6467-9_11
- Brody, A. L., Mandelkern, M. A., Jarvik, M. E., Lee, G. S., Smith, E. C., Huang, J. C., et al. (2004). Differences between smokers and nonsmokers in regional gray matter volumes and densities. *Biol. Psychiatry* 55, 77–84. doi: 10.1016/S0006-3223(03)00610-3
- Cherbuin, N., Sachdev, P., and Anstey, K. J. (2012). Higher normal fasting plasma glucose is associated with hippocampal atrophy The PATH Study. *Neurology* 79, 1019–1026. doi: 10.1212/WNL.0b013e31826846de
- Coffey, C. E., Lucke, J. F., Saxton, J. A., Ratcliff, G., Unitas, L. J., Billig, B., et al. (1998). Sex differences in brain aging: a quantitative magnetic resonance imaging study. *Arch. Neurol.* 55, 169–179. doi: 10.1001/archneur.55.2.169
- Coffey, C. E., Saxton, J. A., Ratcliff, G., Bryan, R. N., and Lucke, J. F. (1999). Relation of education to brain size in normal aging: implications for the reserve hypothesis. *Neurology* 53, 189–196. doi: 10.1212/WNL.53.1.189
- Crivello, F., Lemaitre, H., Dufouil, C., Gratiot, B., Delcroix, N., Tzourio-Mazoyer, N., et al. (2010). Effects of ApoE-epsilon4 allele load and age on the rates of grey matter and hippocampal volumes loss in a longitudinal cohort of 1186 healthy elderly persons. *Neuroimage* 53, 1064–1069. doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.12.116

- Debette, S., Seshadri, S., Beiser, A., An, R., Himali, J. J., Palumbo, C., et al. (2011). Midlife vascular risk factor exposure accelerates structural brain aging and cognitive decline. *Neurology* 77, 461–468. doi: 10.1212/WNL.0b013e318227b227
- Debette, S., Wolf, C., Lambert, J.-C., Crivello, F., Soumaré, A., Zhu, Y.-C., et al. (2014). Abdominal obesity and lower gray matter volume: a Mendelian randomization study. *Neurobiol. Aging* 35, 378–386. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.07.022
- Demirakca, T., Ende, G., Kämmerer, N., Welzel-Marquez, H., Hermann, D., Heinz, A., et al. (2011). Effects of alcoholism and continued abstinence on brain volumes in both genders. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 35, 1678–1685. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01514.x
- Den Heijer, T., Oudkerk, M., Lamer, L. J., van Duijn, C. M., Hofman, A., and Breteler, M. M. B. (2002). Hippocampal, amygdalar, and global brain atrophy in different apolipoprotein E genotypes. *Neurology* 59, 746–748. doi: 10.1212/WNL.59.5.746
- Driscoll, I., Beydoun, M. A., An, Y., Davatzikos, C., Ferrucci, L., Zonderman, A. B., et al. (2012). Midlife obesity and trajectories of brain volume changes in older adults. *Hum. Brain Mapp.* 33, 2204–2210. doi: 10.1002/hbm.21353
- Durazzo, T. C., Insel, P. S., and Weiner, M. W. (2012). Greater regional brain atrophy rate in healthy elderly subjects with a history of cigarette smoking. *Alzheimers Dement.* 8, 513–519. doi: 10.1016/j.jalz.2011.10.006
- Durazzo, T. C., Meyerhoff, D. J., and Nixon, S. J. (2013). Interactive effects of chronic cigarette smoking and age on hippocampal volumes. *Drug Alcohol Depend.* 133, 704–711. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2013.08.020
- Elbejjani, M., Fuhrer, R., Abrahamowicz, M., Mazoyer, B., Crivello, F., Tzourio, C., et al. (2014). Hippocampal atrophy and subsequent depressive symptoms in older men and women: results from a 10-year prospective cohort. *Am. J. Epidemiol.* 180, 385–393. doi: 10.1093/aje/kwt132
- Enzinger, C., Fazekas, F., Matthews, P. M., Ropele, S., Schmidt, H., Smith, S., et al. (2005). Risk factors for progression of brain atrophy in aging Six-year follow-up of normal subjects. *Neurology* 64, 1704–1711. doi: 10.1212/01.WNL.0000161871.83614.BB
- Fjell, A. M., and Walhovd, K. B. (2010). Structural brain changes in aging: courses, causes and cognitive consequences. *Rev. Neurosci.* 21, 187–221. doi: 10.1515/REVNEURO.2010.21.3.187
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., and McHugh, P. R. (1975). “Mini-mental state.” A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr. Res.* 12, 189–198. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6
- Frank, K., Ristow, M., Gaser, C., and Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative. (2014). Gender-specific impact of personal health parameters on individual brain aging in cognitively unimpaired elderly subjects. *Front. Aging Neurosci.* 6:94. doi: 10.3389/fnagi.2014.00094
- Fritz, H.-C., Wittfeld, K., Schmidt, C. O., Domin, M., Grabe, H. J., Hegenscheid, K., et al. (2014). Current smoking and reduced gray matter volume—a Voxel-based morphometry study. *Neuropsychopharmacology* 39, 2594–2600. doi: 10.1038/npp.2014.112
- Gallinat, J., Meisenzahl, E., Jacobsen, L. K., Kalus, P., Bierbrauer, J., Kienast, T., et al. (2006). Smoking and structural brain deficits: a volumetric MR investigation. *Eur. J. Neurosci.* 24, 1744–1750. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.05050.x
- Gandy, S. (2003). Estrogen and neurodegeneration. *Neurochem. Res.* 28, 1003–1008. doi: 10.1023/A:1023246921127
- Godin, O., Maillard, P., Crivello, F., Alperovitch, A., Mazoyer, B., Tzourio, C., et al. (2009). Association of white-matter lesions with brain atrophy markers: the three-city Dijon MRI study. *Cerebrovasc. Dis.* 28, 177–184. doi: 10.1159/000226117
- Good, C. D., Johnsrude, I. S., Ashburner, J., Henson, R. N. A., Friston, K. J., and Frackowiak, R. S. J. (2001). A Voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage* 14, 21–36. doi: 10.1006/nimg.2001.0786
- Haltia, L. T., Viljanen, A., Parkkola, R., Kemppainen, N., Rinne, J. O., Nuutila, P., et al. (2007). Brain white matter expansion in human obesity and the recovering effect of dieting. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92, 3278–3284. doi: 10.1210/jc.2006-2495
- Harding, A. J., Wong, A., Svoboda, M., Kril, J. J., and Halliday, G. M. (1997). Chronic alcohol consumption does not cause hippocampal neuron loss in humans. *Hippocampus* 7, 78–87. doi: 10.1002/(SICI)1098-1063(1997)7<1818::AID-HIPO88gt>3.0.CO;2-3
- Hof, P. R., and Morrison, J. H. (2004). The aging brain: morphomolecular senescence of cortical circuits. *Trends Neurosci.* 27, 607–613. doi: 10.1016/j.tins.2004.07.013
- Hommer, D., Momenan, R., Kaiser, E., and Rawlings, R. (2001). Evidence for a gender-related effect of alcoholism on brain volumes. *Am. J. Psychiatry* 158, 198–204. doi: 10.1176/appi.ajp.158.2.198
- Hoogendam, Y. Y., van der Geest, J. N., van der Lijn, F., van der Lugt, A., Niessen, W. J., Krestin, G. P., et al. (2012). Determinants of cerebellar and cerebral volume in the general elderly population. *Neurobiol. Aging* 33, 2774–2781. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.02.012
- Hua, X., Hibar, D. P., Lee, S., Toga, A. W., Jack, C. R., Weiner, M. W., et al. (2010). Sex and age differences in atrophic rates: an ADNI study with n=1368 MRI scans. *Neurobiol. Aging* 31, 1463–1480. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.04.033
- Ikram, M. A., Vrooman, H. A., Vernooij, M. W., van der Lijn, F., Hofman, A., van der Lugt, A., et al. (2008). Brain tissue volumes in the general elderly population. *Neurobiol. Aging* 29, 882–890. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2006.12.012
- Lemaitre, H., Crivello, F., Dufouil, C., Grassiot, B., Tzourio, C., Alperovitch, A., et al. (2005a). No $\epsilon 4$ gene dose effect on hippocampal atrophy in a large MRI database of healthy elderly subjects. *Neuroimage* 24, 1205–1213. doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.10.016
- Lemaitre, H., Crivello, F., Grassiot, B., Alperovitch, A., Tzourio, C., and Mazoyer, B. (2005b). Age- and sex-related effects on the neuroanatomy of healthy elderly. *Neuroimage* 26, 900–911. doi: 10.1016/j.neuroimage.2005.02.042
- Leonard, C. M., Towler, S., Welcome, S., Halderman, L. K., Otto, R., Eckert, M. A., et al. (2008). Size matters: cerebral volume influences sex differences in neuroanatomy. *Cereb. Cortex* 18, 2920–2931. doi: 10.1093/cercor/bhn052
- Liao, Y., Tang, J., Liu, T., Chen, X., and Hao, W. (2010). Differences between smokers and non-smokers in regional gray matter volumes: a voxel-based morphometry study. *Addict. Biol.* 17, 977–980. doi: 10.1111/j.1369-1600.2010.00250.x
- Longstreth, Jr. W. T., Arnold, A. M., Manolio, T. A., Burke, G. L., Bryan, N., Jungreis, C. A., et al. (2000). Clinical correlates of ventricular and sulcal size on cranial magnetic resonance imaging of 3,301 elderly people. *Neuroepidemiology* 19, 30–42. doi: 10.1159/000026235
- Maillard, P., Delcroix, N., Crivello, F., Dufouil, C., Cicquel, S., Joliet, M., et al. (2008). An automated procedure for the assessment of white matter hyperintensities by multispectral (T1, T2, PD) MRI and an evaluation of its between-centre reproducibility based on two large community databases. *Neuroradiology* 59, 31–42. doi: 10.1007/s00234-007-0312-3
- Maillard, P., Seshadri, S., Beiser, A., Himali, J. J., An, R., Fletcher, E., et al. (2012). Effects of systolic blood pressure on white-matter integrity in young adults in the Framingham Heart Study: a cross-sectional study. *Lancet Neurol.* 11, 1039–1047. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70241-7
- Miller, A. K., Alston, R. L., and Corsellis, J. A. (1980). Variation with age in the volumes of grey and white matter in the cerebral hemispheres of man: measurements with an image analyser. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 6, 119–132. doi: 10.1111/j.1365-2990.1980.tb00283.x
- Morales, A. M., Lee, B., Hellemann, G., O’Neill, J., and London, E. D. (2012). Gray-matter volume in methamphetamine dependence: cigarette smoking and changes with abstinence from methamphetamine. *Drug Alcohol Depend.* 125, 230–238. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2012.02.017
- Mukamal, K. J., Longstreth, W. T., Mittleman, M. A., Crum, R. M., Siscovick, D. S., and Berezski, D. (2001). Alcohol consumption and subclinical findings on magnetic resonance imaging of the brain in older adults: the cardiovascular health study editorial comment: the cardiovascular health study. *Stroke* 32, 1939–1946. doi: 10.1161/hs0901.095723
- O’Dwyer, L., Lamberton, F., Bokde, A. L. W., Ewers, M., Fahy, Y. O., Tanner, C., et al. (2012). Sexual dimorphism in healthy aging and mild cognitive impairment: a DTI study. *PLoS ONE* 7:e37021. doi: 10.1371/journal.pone.0037021
- Ott, A., Andersen, K., Dewey, M. E., Letenneur, L., Brayne, C., Copeland, J. R. M., et al. (2004). Effect of smoking on global cognitive function in nondemented elderly. *Neurology* 62, 920–924. doi: 10.1212/01.WNL.0000115110.35610.80
- Ott, A., Slioter, A. J., Hofman, A., van Harskamp, F., Witteman, J. C., Van Broeckhoven, C., et al. (1998). Smoking and risk of dementia and Alzheimer’s disease in a population-based cohort study: the Rotterdam Study. *Lancet* 351, 1840–1843. doi: 10.1016/S0140-6736(97)07541-7
- Pan, P., Shi, H., Zhong, J., Xiao, P., Shen, Y., Wu, L., et al. (2013). Chronic smoking and brain gray matter changes: evidence from meta-analysis of voxel-based

- morphometry studies. *Neurol. Sci.* 34, 813–817. doi: 10.1007/s10072-012-1256-x
- Paul, R., Grieve, S., Nianra, R., David, S., Laidlaw, D., Cohen, R., et al. (2008). Chronic cigarette smoking and the microstructural integrity of white matter in healthy adults: a diffusion tensor imaging study. *Nicotine Tob. Res.* 10, 137–147. doi: 10.1080/14622200701767829
- Peters, R. (2012). Blood pressure, smoking and alcohol use, association with vascular dementia. *Exp. Gerontol.* 47, 865–872. doi: 10.1016/j.exger.2012.05.018
- Pfefferbaum, A., Rosenbloom, M., Deshmukh, A., and Sullivan, E. V. (2001). Sex differences in the effects of alcohol on brain structure. *Am. J. Psychiatry* 158, 188–197. doi: 10.1176/appi.ajp.158.2.188
- Pillai, J. A., McEvoy, L. K., Hagler, D. J. Jr., Holland, D., Dale, A. M., Salmon, D. P., et al. (2012). Higher education is not associated with greater cortical thickness in brain areas related to literacy or intelligence in normal aging or mild cognitive impairment. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 34, 925–935. doi: 10.1080/13803395.2012.702733
- Pryor, W. A., Stone, K., Cross, C. E., Machlin, L., and Packer, L. (1993). Oxidants in cigarette smoke: radicals, hydrogen peroxide, peroxynitrate, and peroxynitrite. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 686, 12–28. doi: 10.1111/j.1749-6632.1993.tb39148.x
- Raz, N., Rodrigue, K. M., Kennedy, K. M., and Acker, J. D. (2004). Hormone replacement therapy and age-related brain shrinkage: regional effects. *Neuroreport* 15, 2531–2534. doi: 10.1097/00001756-200411150-00020
- Resnick, S. M., Pham, D. L., Kraut, M. A., Zonderman, A. B., and Davatzikos, C. (2003). Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. *J. Neurosci.* 23, 3295–3301.
- Rusanen, M., Kivipelto, M., Quesenberry, C. P. Jr., Zhou, J., and Whitmer, R. A. (2011). Heavy smoking in midlife and long-term risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch. Intern. Med.* 171, 333–339. doi: 10.1001/archinternmed.2010.393
- Ryan, J., Artero, S., Carrière, I., Scali, J., Maller, J. J., Meslin, C., et al. (2014). Brain volumes in late life: gender, hormone treatment, and estrogen receptor variants. *Neurobiol. Aging* 35, 645–654. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.09.026
- Sabia, S. (2012). Impact of smoking on cognitive decline in early old age: the whitehall ii cohort study. *Arch. Gen. Psychiatry* 69, 627–635. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.2016
- Sabia, S., Elbaz, A., Britton, A., Bell, S., Dugravot, A., Shipley, M., et al. (2014). Alcohol consumption and cognitive decline in early old age. *Neurology* 82, 332–339. doi: 10.1212/WNL.0000000000000063
- Shpankaya, K. S., Choudhury, K. R., Hostage, C. Jr., Murphy, K. R., Petrella, J. R., Doraiswamy, P. M., et al. (2014). Educational attainment and hippocampal atrophy in the Alzheimer's disease neuroimaging initiative cohort. *J. Neurosci.* 8, 132–140. doi: 10.1016/j.neurad.2013.11.004
- Smith, C. D., Chebrolu, H., Wekstein, D. R., Schmitt, F. A., and Markesbery, W. R. (2007). Age and gender effects on human brain anatomy: a voxel-based morphometric study in healthy elderly. *Neurobiol. Aging* 28, 1075–1087. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2006.05.018
- Starr, J. M., Deary, I. J., Fox, H. C., and Whalley, L. J. (2007). Smoking and cognitive change from age 11 to 66 years: a confirmatory investigation. *Addict. Behav.* 32, 63–68. doi: 10.1016/j.addbeh.2006.03.020
- Stein, J. L., Medland, S. E., Vasquez, A. A., Hibar, D. P., Senstad, R. E., Winkler, A. M., et al. (2012). Identification of common variants associated with human hippocampal and intracranial volumes. *Nat. Genet.* 44, 552–561. doi: 10.1038/ng.2250
- Tendolkar, I., Enajat, M., Zwiers, M. P., van Wingen, G., de Leeuw, F.-E., van Kuilenburg, J., et al. (2012). One-year cholesterol lowering treatment reduces medial temporal lobe atrophy and memory decline in stroke-free elderly with atrial fibrillation: evidence from a parallel group randomized trial. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 27, 49–58. doi: 10.1002/gps.2688
- Thambisetty, M., Wan, J., Carass, A., An, Y., Prince, J. L., and Resnick, S. M. (2010). Longitudinal changes in cortical thickness associated with normal aging. *Neuroimage* 52, 1215–1223. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.04.258
- Tolstrup, J., Jensen, M. K., Tjønneland, A., Overvad, K., Mukamal, K. J., and Grønbaek, M. (2006). Prospective study of alcohol drinking patterns and coronary heart disease in women and men. *BMJ* 332, 1244–1248. doi: 10.1136/bmj.38831.503113.7C
- Tzourio-Mazoyer, N., Landeau, B., Papathanassiou, D., Crivello, F., Etard, O., Delcroix, N., et al. (2002). Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *Neuroimage* 15, 273–289. doi: 10.1006/nimg.2001.0978
- Umene-Nakano, W., Yoshimura, R., Kakeda, S., Watanabe, K., Hayashi, K., Nishimura, J., et al. (2014). Abnormal white matter integrity in the corpus callosum among smokers: tract-based spatial statistics. *PLoS ONE* 9:e87890. doi: 10.1371/journal.pone.0087890
- Van Velsen, E. F. S., Vernooij, M. W., Vrooman, H. A., van der Lugt, A., Breteler, M. M. B., Hofman, A., et al. (2013). Brain cortical thickness in the general elderly population: the Rotterdam Scan study. *Neurosci. Lett.* 550, 189–194. doi: 10.1016/j.neulet.2013.06.063
- Wang, X., and Michaelis, E. K. (2010). Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Front. Aging Neurosci.* 2:12. doi: 10.3389/fnagi.2010.00012
- Xu, J., Li, Y., Lin, H., Sinha, R., and Potenza, M. N. (2013). Body mass index correlates negatively with white matter integrity in the fornix and corpus callosum: a diffusion tensor imaging study. *Hum. Brain Mapp.* 34, 1044–1052. doi: 10.1002/hbm.21491
- Yu, R., Zhao, L., and Lu, L. (2011). Regional grey and white matter changes in heavy male smokers. *PLoS ONE* 6:e27440. doi: 10.1371/journal.pone.0027440
- Zhang, X., Salmeron, B. J., Ross, T. J., Geng, X., Yang, Y., and Stein, E. A. (2011). Factors underlying prefrontal and insula structural alterations in smokers. *Neuroimage* 54, 42–48. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.08.008

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Received: 27 August 2014; accepted: 15 October 2014; published online: 03 November 2014.

Citation: Duriez Q, Crivello F and Mazoyer B (2014) Sex-related and tissue-specific effects of tobacco smoking on brain atrophy: assessment in a large longitudinal cohort of healthy elderly. *Front. Aging Neurosci.* 6:299. doi: 10.3389/fnagi.2014.00299

This article was submitted to the journal *Frontiers in Aging Neuroscience*. Copyright © 2014 Duriez, Crivello and Mazoyer. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.